

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE CEPAS RESISTENTES A ANTIBIOTICOS EN
MANGLARES ARIDO-TROPICALES**

POR:

KAREN ARELY ZAPIÉN CHAVARRÍA

TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2021



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Chihuahua, Chih., a 12 de noviembre del 2021.

Oficio: 97/CA/SIP/21

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de Chihuahua
P R E S E N T E

Los integrantes del comité, informamos a Usted que efectuamos la revisión de la tesis intitulada: **“Aislamiento e identificación de cepas resistentes a antibióticos en manglares árido-tropicales”**, presentada por la **Q.B.P. Karen Arely Zapién Chavarría**, alumna del programa de Maestría en Ciencias en Biotecnología.

Después de la revisión, indicamos a la tesista las correcciones que eran necesarias efectuar y habiéndolas realizado, manifestamos que la tesis, de la cual adjuntamos un ejemplar, ha cumplido con los objetivos señalados por el Comité de Tesis, por lo que puede ser considerada como adecuada para que se proceda con los trámites para la presentación de su Examen de Grado.

A t e n t a m e n t e
“Por la ciencia para bien del hombre”

Dra. Guadalupe Virginia Nevárez Moorillón
Asesora de tesis

Dr. Oskar Alejandro Palacios López
Asesor de tesis

Dr. Jaime Raúl Adame Gallegos
Director de tesis

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado



**FACULTAD DE
CIENCIAS QUÍMICAS
SECRETARIA
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*El que suscribe certifica que las firmas que aparecen en esta acta, son auténticas, y las mismas que utilizan los C. Profesores mencionados.

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Circuito Universitario
Campus Universitario #2 C.P. 31125
Tel. +52 (614) 236 6000
Chihuahua, Chihuahua, México
<http://www.fcq.uach.mx>

Chihuahua, Chih., a 4 de noviembre de 2021.

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de Chihuahua
P R E S E N T E

Por este conducto le informo que he revisado y liberado la tesis "Aislamiento e identificación de cepas resistentes a antibióticos en manglares árido-tropicales", presentada por la estudiante del programa de Maestría en Ciencias en Biotecnología, Q.B.P. Karen Arely Zapién Chavarría, matrícula 271721.

Agradezco de antemano su atención.

Saludos cordiales,



Dr. Jaime Raúl Adame Gallegos
Director de tesis

Coordinador Académico, Secretaría de Investigación y Posgrado FCQ-UACH
Facultad de Ciencias Químicas, UACH.
Campus Universitario #2, C.P. 31125.
Chihuahua, Chih., México.
Tel: +52 614 236-60-00 Ext. 4294

La presente tesis forma parte del proyecto “APROXIMACION MULTIDISCIPLINARIA PARA LA GENERACION DE INDICADORES DEL ESTADO DE CONSERVACION DE MANGLARES ARIDO-TROPICALES Y MEJORAMIENTO DE SU RESILENCIA MEDIANTE INGENIERIA DE INTERACCIONES PLANTA-MICROBIOMAS”. El trabajo contó con financiamiento del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a través del FORDECYT, proyecto No. 297585.

El trabajo experimental se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología III, de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua.



AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por la confianza y el apoyo que me brindaron a lo largo de estos 2 años, ya que sin su motivación no habría logrado llegar hasta este punto en mi desarrollo académico.

Expreso mis más grandes agradecimientos a los doctores que participaron en este proyecto, Dr. Oskar Palacios, Dr. Jaime Adame y la Dra. Blanca Rivera, por compartir su conocimiento y por brindarme las herramientas con las que pude culminar este proyecto de tesis.

Hago una mención especial a la Dra. Virginia Nevaréz Moorillón, por su apoyo tanto en lo académico, como personal, por ser esa madre académica que hizo crecer en mí el amor por la microbiología.

A la Universidad Autónoma de Chihuahua por permitirme ingresar a un programa de maestría que me formó como profesional en un área tan importante como la biotecnología.

Al equipo de trabajo del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste de La Paz (CIBNOR), por todo el apoyo y por compartir semana a semana sus conocimientos en áreas las cuales fueron nuevas para mí.

A mis compañeros de Biotecnología, por hacer de esta maestría una experiencia tan bonita en la que obtuve nuevos grandes amigos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) agradezco el apoyo económico recibido a través de la beca que se me fue proporcionada a lo largo del programa de maestría, ya que fue un apoyo sin el cual había sido difícil la realización de este posgrado.



ÍNDICE

Índice de tablas.....	iv
Índice de figuras.....	v
Lista de abreviaturas.....	vi
RESUMEN.....	vii
Palabras Clave.....	vii
ABSTRACT.....	viii
Keywords.....	viii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. Antecedentes.....	3
2.1. Manglares.....	3
2.2. Manglares en el Noroeste de México.....	5
2.2.1. Humedales Mogote-Ensenada de La Paz.....	5
2.2.2. Bahía Magdalena.....	6
2.3. Monitoreo ambiental en manglares.....	6
2.4. Contaminación por actividades antropogénicas.....	7
2.4.1. Turismo.....	8
2.4.2. Acuacultura, Agricultura y Ganadería.....	8
2.4.3. Desechos industriales.....	8
2.4.4. Desechos de origen hospitalario.....	9
2.4.5. Descargas de aguas residuales.....	9
2.5. Bacterias multirresistentes a antibióticos en Manglares.....	10
2.5.1. Salud.....	10
2.5.2. Bacterias resistentes a antibióticos y sus mecanismos de resistencia.....	11
2.5.3. Antibióticos.....	12
2.5.4. Evaluación de BMRA en manglares como bioindicador.....	13



3. JUSTIFICACIÓN.....	15
4. HIPÓTESIS.....	15
5. OBJETIVO GENERAL.....	15
6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
7.1. Materiales y Equipos.....	16
7.2. Métodos.....	17
7.2.1. Delimitación de áreas de estudio y toma de muestras de sedimento para el aislamiento de bacterias.....	17
7.2.1.1. Manglar Bahía Magdalena, puerto San Carlos.....	18
7.2.1.2. Manglar Mogote, Ensenada de La Paz.....	21
7.2.1.3. Manglar Cola de Ballena, Carretera Aeropuerto La Paz, Marina Sur.....	23
7.2.2. Toma de muestras de sedimento para el aislamiento de bacterias.....	24
7.2.3. Determinación de las cepas multirresistentes.....	24
7.2.3.1. Aislamiento primario de las cepas en función del grado de tolerancia a la salinidad.....	25
7.2.3.2. Determinación del perfil fenotípico de resistencia a antibióticos.....	26
7.2.3.3. Análisis fenotípico de los patrones multirresistentes.....	27
7.2.3.4. Análisis estadístico de Análisis de Varianza de Anidados y Comparación de Morfotipos.....	28
8. RESULTADOS.....	28
8.1 Estandarización de la metodología.....	28
8.1.1. Aislamiento primario de las cepas en función del grado de tolerancia a la salinidad.....	28
8.1.2. Selección de cepas multirresistentes.....	29
8.1.3. Análisis fenotípicos de los patrones multirresistentes.....	30
8.2. Selección de cepas multirresistentes.....	30



8.2.1. Análisis de Conglomerados para la selección de cepas multirresistentes.....	30
8.3. Comparación de cepas multirresistentes en subsitios conservados y perturbados.....	38
8.4. Resistencia a antibióticos mostrada por los aislados de sedimentos...	43
8.5. Análisis fenotípico de los patrones multirresistentes.....	44
9. DISCUSIÓN.....	46
9.1. Selección de cepas multirresistentes.....	46
9.2. Comparación de cepas multirresistentes en subsitios conservados y perturbados.....	48
9.3. Resistencia a antibióticos mostrada por los aislados de sedimentos.....	49
9.4. Análisis fenotípico de los patrones multirresistentes.....	50
10. CONCLUSIONES.....	51
11. REFERENCIAS.....	52
ANEXOS.....	59
Anexo I. Tabla de determinación de la relación entre Salinidad, Profundidad, Manglar y Subsitio con el número de aislados.....	59
Anexo II. Perfiles de Resistencia Fenotipicos.....	60
II-A. Tabla de perfiles de resistencia Manglar Mogote.....	60
II-B. Tabla de perfiles de resistencia Manglar Lagunitas.....	62
II-C. Tabla de perfiles de resistencia Manglar San Carlos Perturbado (CFE).....	65
II-D. Tabla de perfiles de resistencia Manglar San Carlos Conservado (SCC).....	67
II-E. Tabla de perfiles de resistencia Manglar Carretera Aeropuerto - La Paz (CDB).....	64



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cantidad de aislados multirresistentes pre y post Conglomerados.....	31
Tabla 2. Aislados por subsitio de muestreo.....	37
Tabla 3. Cepas multirresistentes y profundidad.....	37
Tabla 4. Aislados por subsitio, Manglar Lagunitas.....	38
Tabla 5. Aislados por subsitio, Manglar Mogote.....	39
Tabla 6. Aislados por subsitio, Manglar San Carlos Perturbado – CFE.....	40
Tabla 7. Aislados por subsitio, Manglar San Carlos Conservado – SCC.....	41
Tabla 8. Aislados por subsitio, Manglar Cola de Ballena – Carretera Aeropuerto La Paz.....	42
Tabla 9. Multirresistencia por antibiótico.....	43
Tabla 10. Perfiles fenotipicos de resistencia.....	44



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Manglares a estudiar en Baja California Sur.....</i>	18
Figura 2. <i>Manglar San Carlos, subsitio conservado.....</i>	19
Figura 3. <i>Manglar San Carlos, subsitio perturbado.....</i>	20
Figura 4. <i>Manglar Lagunitas, subsitio perturbado.....</i>	21
Figura 5. <i>Manglar Mogote, subsitio conservado.....</i>	22
Figura 6. <i>Manglar Cola de Ballena, Carretera Aeropuerto – La Paz.....</i>	23
Figura 7. <i>Metodología para el aislamiento primario de las cepas.....</i>	29
Figura 8. <i>Metodología para la selección de cepas multirresistentes a antibióticos.....</i>	31
Figura 9. <i>Dendogramas de análisis de conglomerados de Manglares Mogote (MM) y Lagunitas (ML)</i>	32
Figura 10. <i>Dendogramas de análisis de conglomerados de Manglar San Carlos Perturbado (CFE)</i>	33
Figura 11. <i>Dendogramas de análisis de conglomerados de Manglar San Carlos Conservado (SCC)</i>	34
Figura 12. <i>Dendogramas de análisis de conglomerados de Manglar Carretera Aeropuerto – La Paz (CDB)</i>	35
Figura 13. <i>Aislados multirresistentes totales por manglar.....</i>	36



LISTA DE ABREVIATURAS

ARGs. Genes de resistencia a antibióticos
BLEE. β -lactamasas de Espectro Extendido
BRA. Bacterias resistentes a antibióticos
BRMA. Bacterias multirresistentes a antibióticos
MFS. Superfamilia facilitadora principal
NOM. Norma Oficial Mexicana
TSA. Agar de Soya y Trypticaseína

Unidades

$^{\circ}\text{C}$. Grados Celsius
cm. Centímetros
g. Gramos
 Km^2 . Kilometros cuadrados
mL Mililitros

Instituciones

CDC. Center for Disease Control and Prevention
CFE. Comisión Federal de Electricidad
CIBNOR. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
CICIMAR. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas
CONABIO. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad
CONANP. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas
FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
IPN. Instituto Politécnico Nacional
SEMARNAT. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
UABCS. Universidad Autónoma de Baja California Sur
UACH. Universidad Autónoma de Chihuahua



RESUMEN

La presencia de bacterias multirresistentes en el medio ambiente es una preocupación mundial, ya que es un problema que puede estar relacionado con el crecimiento de la población y un aumento en la carga de contaminantes emergentes, como los antibióticos. El objetivo de este proyecto fue determinar la presencia de bacterias multirresistentes, como bioindicadores de perturbación ambiental por actividad humana, en manglares de Baja California Sur, México. Además, para obtener su perfil de resistencia a antibióticos y para correlacionar su presencia con diferentes grados de contaminación en el sitio de muestreo. Los sedimentos del suelo se sembraron en medio TSA con cloruro de sodio. Los aislamientos se seleccionaron basándose en la morfología colonial y los cultivos puros se inocularon en medio TSA añadido con 7 antibióticos seleccionados según los criterios de CLSI. Los resultados proporcionaron un perfil fenotípico y basándose en el análisis de conglomerados, se seleccionaron los diferentes aislamientos. Se incluyeron tres ecosistemas de manglar diferentes en el estudio y se obtuvieron un total de 408 aislamientos multirresistentes. El manglar Carretera Aeropuerto-La Paz, presentó el mayor número de bacterias multirresistentes a antibióticos, con un total de 191 aislados multirresistentes, y se relacionó con su ubicación cercana con una planta de tratamiento de aguas residuales; por lo tanto, las descargas de aguas residuales estaban afectando a la comunidad microbiana del manglar. Los resultados de los perfiles fenotípicos obtenidos muestran una alta frecuencia de resistencia a los antibióticos cefotaxima y ciprofloxacina (371 y 349 resistencias respectivamente), que se asocia con β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), y están comúnmente presentes en bacterias enteropatógenicas y uropatógenicas. Aunque también hubo un gran número de aislados en los otros manglares, no hubo diferencia estadística en los diferentes aislados obtenidos. Los resultados muestran que el uso incontrolado de antibióticos y su descarga en el ambiente pueden afectar a las comunidades microbianas de ecosistemas como los manglares.

Palabras Clave: Bacterias multirresistentes; Manglar; Análisis fenotípico; Contaminación



ABSTRACT

The presence of multidrug-resistant bacteria in the environment is of worldwide concern, since it is a problem that can be related to population growth and an increase in disposal of emerging contaminants, such as antibiotics. The objective of this project was to determine the presence of multidrug-resistant bacteria, as bioindicators of environmental perturbation due to human activity, in mangroves of Baja California Sur, Mexico. Also, to obtain their antibiotic resistance profile and to correlate their presence with different degrees of contamination in the sampling site. Soil sediments were plated in TSA medium with sodium chloride. Isolates were selected based in colonial morphology and pure cultures were inoculated in TSA medium added with 7 antibiotics selected based on CLSI criteria. Results provided a phenotypic profile, and based on cluster analysis, the different isolates were selected. Three different mangrove ecosystems were included in the study, and a total of 408 multi-resistant isolates were obtained. The Carretera Aeropuerto-La Paz mangrove, presented the higher number of antibiotic multidrug-resistant bacteria, with a total of 191 multidrug resistant isolates, and was related to its close location with a wastewater treatment plant; therefore, sewage discharges were affecting the microbial community of the mangrove. The results of phenotypic profiles obtained, show a high frequency of resistance to the antibiotics Cefotaxime and Ciprofloxacin (371 and 349 resistances respectively), which is associated with Extended Spectrum β -lactamases (ESBL), and are commonly present in enteropathogenic and uropathogenic bacteria. Although there were also many isolated in the other mangroves, there was no statistical difference on the different isolates obtained. These results show that uncontrolled use of the antibiotics in humans, and their discharges in the environment, can affect the microbial communities of ecosystems such as mangroves, and can be a consequence of uncontrolled and unsupervised administration.

Keywords: Multidrug resistance bacteria; Mangroves; Phenotypic analysis; Contamination.



1. INTRODUCCIÓN

Los manglares son bosques salino-tolerantes, que se encuentran en la transición entre los ecosistemas terrestres y marinos. Son altamente productivos ya que cuentan con una gran riqueza biológica que ha desarrollado una amplia tolerancia a las variaciones de salinidad. México es el cuarto país con mayor extensión de estos ecosistemas en el mundo, y se encuentran distribuidos en los 17 estados de la república que poseen litoral. El ecosistema del manglar se compone por comunidades vegetales conocidas como “mangles”. En México han sido registrados principalmente cuatro especies: *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa*, *Avicennia germinans*, y *Conocarpus erectus* (Rodríguez et al., 2013).

El Golfo de California es considerado una de las regiones más productivas y con mayor biodiversidad del planeta. El clima es subtropical, de semiárido a muy árido, con temperaturas mínimas de 4 a 9 °C y como máximas de 36 a 40 °C. A la fecha, el Golfo de California es una de las regiones con mayor desarrollo en México, aumentando a la par su grado de urbanización y de designación de áreas para la acuicultura y agricultura (López-López, 2013).

En la última década, los manglares se han visto ampliamente afectados debido al aumento de actividades antropogénicas (Imchen et al., 2019). Estas actividades son consideradas como la mayor amenaza para los manglares y se relacionan con la falta de planificación del desarrollo urbano, industrial y turístico, que derivan en dispersión de desechos humanos, contaminantes industriales, pesticidas y fertilizantes. El aumento en la carga de contaminantes provenientes de actividades humanas crea un ambiente propicio para la sobrevivencia de microorganismos que, bajo otras circunstancias, no estarían presentes. Como ejemplo esta la descarga de aguas residuales, que aumenta la carga orgánica en los manglares y por lo tanto propicia el desarrollo de microorganismos patógenos para los humanos como coliformes fecales (Cabral et al., 2011).



Dentro de los diferentes contaminantes que se encuentran en las descargas de aguas residuales, se pueden encontrar residuos de antibióticos. Estos son introducidos al ambiente por medio de diversas actividades humanas, incluyendo la disposición directa de medicamentos no utilizados, las descargas residuales de plantas de manufacturafarmacéutica y hospitales, así como el uso de fármacos veterinarios. Además, la mayoría de los antibióticos son pobremente absorbidos y no son completamente metabolizados en el cuerpo humano y en animales. Por lo tanto, un alto porcentaje de la dosis de consumo (30-90%) de la mayoría de los antibióticos es excretada vía orina y heces (Christou et al., 2017).

Todos estos desechos de antibióticos en diferentes ecosistemas, así como el uso no regulado de los mismos han provocado que varios microorganismos de importancia clínica se adapten a la presencia de antibióticos, incluso en concentraciones clínicas terapéuticas. Lo anterior no sólo sucede en microrganismos de importancia clínica. Se ha encontrado evidencia de bacterias no patógenas que crean resistencia a antibióticos, por lo que sirven como reservorio de genes de resistencia, que pueden luego ser transferidos a otros microorganismos patógenos (Imchen et al., 2019). La problemática desatada por las bacterias resistentes a antibióticos no sólo está relacionada a la salud humana, también es de gran relevancia ecológica.

La determinación de microorganismos resistentes a antimicrobianos se ha propuesto como indicador de urbanización, debido a que la resistencia a antimicrobianos está relacionada con el uso excesivo en salud pública y actividades productivas como la acuicultura. La transferencia de genes de resistencia a antibióticos al microbioma de ecosistemas impactados por la contaminación propicia luego la aparición de cepas patógenas multirresistentes, con el consecuente riesgo a la salud pública (Gao et al., 2012). En estudios anteriores se ha demostrado que el uso de aguas residuales para la irrigación de suelos incrementa la proliferación de microorganismos multirresistentes, lo cual fue comprobado al observar una mayor presencia de bacterias multirresistentes en suelos regularmente irrigados con aguas



residuales no tratadas, que en aquellos que no habían sido irrigados por más de 10 años (Palacios et al., 2017). Lo anterior se relaciona con la afectación de dichos suelos debido a las actividades antropogénicas y cómo las bacterias multirresistentes se expresan como un indicador del grado de perturbación.

2. ANTECEDENTES

2.1 MANGLARES

Los manglares son ecosistemas únicos debido a sus características. Se encuentran entre la transición de ecosistemas terrestres y marinos, por lo que cuentan con constantes variaciones de salinidad, marea e inundaciones. Es por ello que los organismos vivos que habitan en los manglares cuentan con adaptaciones que les permiten la supervivencia en estos ecosistemas, que para otros organismos llegan a ser hostiles (Rodríguez et al., 2018).

Dentro de la importancia ecológica que los manglares aportan, se encuentra el control o barrera de protección ante fenómenos como inundaciones y huracanes; son una rica fuente de materia orgánica y nutrientes para ecosistemas vecinos; son productores importantes de oxígeno, captura de gases de efecto invernadero y sobre todo, son los principales sumideros de dióxido de carbono. Al carbono existente en ecosistemas costeros como pastos marinos y manglares se le conoce como “carbono azul” (Troche et al., 2016). La importancia de los manglares dentro de este concepto se define en la gran capacidad que poseen para almacenar carbono, que es de tres a seis veces más alta por hectárea, comparados con otros bosques tropicales. Por lo anterior, los manglares tienen un gran potencial para la mitigación del cambio climático (Rodríguez et al., 2018).

Aunado a ello, son importantes para diversas especies de fauna; son hábitat de fauna marina como moluscos; además que para las aves son sitios de anidación, tanto de aves residentes, como migratorias (Troche et al., 2016).



En cuanto a su vegetación, a nivel mundial se reportan alrededor de 70 especies de manglar, pertenecientes a 16 familias. En México existen 4 especies de mangle características: *Rhizophora mangle* (mangle rojo), *Avicennia germinans* (mangle negro), *Laguncularia racemosa* (mangle blanco) y *Conocarpus erectus* (mangle botoncillo) (López-Portillo et al., 2002). Estas especies de mangle poseen raíces zancudas que les permiten la supervivencia a las constantes inundaciones y la fijación al suelo. También algunas cuentan con otros mecanismos característicos de mangles, como los neumatóforos y lenticelas, que les permiten captar el oxígeno atmosférico y glándulas excretoras de sal, que les permiten la supervivencia a altas concentraciones de sal (Rodríguez et al., 2018).

Los manglares en México cubren una extensión de 7,755.55 Km², con base a lo reportado hasta el año 2015. Dicha extensión representa el 5.1% de los manglares existentes a nivel mundial. Del total, el 63% se encuentra bajo la normatividad de la Comisión Nacional de áreas Naturales Protegidas (CONANP). Sin embargo, estados como Colima y Guerrero aún poseen manglares sin protección a nivel federal o estatal (Troche et al., 2016).

Dentro del país, los manglares presentan diversas condiciones climáticas. En el Pacífico Norte el clima es árido, mientras que, en el Pacífico Central y Sur, el clima es cálido subhúmedo. En el Golfo de México se presentan condiciones de clima cálido-húmedo y los manglares se encuentran de mayoritariamente en entornos fluviales. En la Península de Yucatán el clima es cálido-subhúmedo (Adame et al., 2018).

2.2 MANGLARES EN EL NOROESTE DE MÉXICO

La importancia de los manglares de la zona de Baja California Sur recae en el hecho de sus características semidesérticas, condiciones extremas con pocas lluvias y un bajo aporte de nutrientes. A pesar de ello, este grupo de manglares presentan tasas de fijación de carbono en sedimento que igualan o superan a algunos de los manglares de las zonas tropicales del país (Calderón et al., 2017).



La Península de Baja California cuenta con pequeñas cuencas de drenaje y poca escorrentía. En este sitio se pueden localizar 16 lagunas costeras de las cuales el 50% cuenta con manglares (López-Portillo et al., 2002).

2.2.1 Humedales Mogote-Ensenada de La Paz

Es una laguna costera presente en el municipio de La Paz, que se encuentra separada de la Bahía de la Paz por una barrera arenosa llamada El Mogote. Está comunicada a la Bahía de La Paz por un canal de 4.5 km de longitud. La importancia ecológica del lugar es debido a que son áreas de anidación de aves vedadoras como la garza morena, garza ganadera, garza tricolor, entre otras. Su comunidad de mangle se compone por *Avicennia germinans* (mangle negro) y *Rhizophora mangle* (mangle rojo), que se encuentran en la categoría de “Protección Especial” en la NOM-059-SEMARNAT-2001 (DOI, 2010). Además, son considerados de valor hidrológico ya que funcionan como barreras naturales contra fenómenos como tormentas y oleaje por huracanes y son estabilizadores de la línea de la costa (Salgado et al., 2007).

2.2.2 Bahía Magdalena

El sitio de humedales de Bahía Magdalena se encuentra en los municipios de Comondú y La Paz, en la localidad de Puerto San Carlos. Su clima es muy árido, semicálido, lo que lo vuelve ideal para el desarrollo del ciclo biológico de varias especies como la tortuga verde, la cual se alimenta de *Avicennia germinans*. Asimismo, durante el invierno es hábitat para las aves playeras de la corriente migratoria del Pacífico, es sitios de crianza para la ballena gris y de anidación de la branta negra del Pacífico (López-Portillo et al., 2002). Además, es considerado un humedal arbustivo con actividades socioeconómicas como la pesca de sardina, langosta, camarón, almeja catarina y ecoturismo. Cuenta con especies de manglar que se encuentran bajo la categoría de amenazadas, que son *Rhizophora mangle*, *Avicennia germinans* y *Laguncularia racemosa* (NOM 059, 2010).



2.3 MONITOREO AMBIENTAL EN MANGLARES

El monitoreo del estado de diversos ecosistemas que han sufrido perturbaciones por causa humana ha sido un tema de gran importancia en la actualidad, ya que se está creando una gran concientización del daño que se ha causado a lo largo de los años (Finegan et al., 2008). Es por ello que el monitoreo ecológico entra como base para la conservación de los ecosistemas. Estos monitoreos, consisten principalmente en la toma, análisis e interpretación de datos, con la finalidad de tomar decisiones con base a los resultados. Estas decisiones se espera que tengan un impacto positivo en la regeneración o recuperación del ecosistema de interés (Finegan et al., 2008).

En México es conocida la problemática del crecimiento poblacional y cómo esto conlleva a la afectación de diversos ecosistemas a lo largo de todo el país. Es por ello se han llevado a cabo diversos proyectos que tienen como objetivo la regeneración de diferentes ecosistemas como humedales, bosques tropicales, templados, vegetación árida y semiárida (Calva y Pavón, 2018).

En 2018 se realizó un monitoreo de manglar del estado en Quintana Roo, debido a la perturbación del ecosistema y como consecuencia, la alteración de la comunidad vegetal, la hidrología del manglar y la fauna. El enfoque se realizó en la evaluación de especies de peces presentes en el ecosistema perturbado en comparación con un sitio ya restaurado. Los resultados que muestran presentan un ligero cambio en la diversidad de dicha fauna a consecuencia a las perturbaciones del manglar (Mendoza et al., 2019). En este tipo de monitoreos se puede observar el uso de indicadores biológicos, como lo es la ictiofauna, con el fin de evidenciar la diferencia entre el ecosistema conservado y aquel perturbado. Si bien, es conocido el impacto de actividades industriales sobre los manglares, también existen otro tipo de actividades como el turismo, que suelen ser consideradas de menor impacto.

Sin embargo, se ha mostrado en diversos estudios los cambios que sufren los ecosistemas a causa de actividades recreativas. Lo anterior se puede observar en



el estudio de Brenner et al. (2018), donde se evalúa el impacto de las actividades humanas en manglares de zonas de gran importancia turística en México, como lo son Cancún y la Riviera Maya. Entre los resultados que presentan muestran impactos directos, indirectos e inducidos, tales como: obras de construcción que eliminan áreas de manglar (directo) y la construcción de carreteras de acceso a zonas urbanas (indirecto). Sin embargo, a pesar de la evidente disminución del área de manglar en Cancún y Riviera Maya, la creación de políticas de conservación más estrictas es una tarea difícil debido a los conflictos de interés y a la alta inversión en turismo, como actividad principal de la zona (Brenner et al., 2018).

2.4 CONTAMINACIÓN POR ACTIVIDADES ANTROPOGÉNICAS EN MANGLARES

Se puede entender como actividades antropogénicas aquellas actividades realizadas por el humano que llevan a consecuencias negativas en el ecosistema. Dichas actividades conllevan a la producción de diferentes contaminantes, tanto orgánicos, como inorgánicos (Nogales et al., 2011). En los manglares, las actividades antropogénicas han provocado cambios evidentes en el ecosistema, como la pérdida de extensión de manglar y afectación directa en flora y fauna. También se han observado cambios en las comunidades microbianas que en conjunto, afecta la funcionalidad del ecosistema (López-Portillo et al., 2002).

A nivel mundial, se ha presentado una pérdida del 23% de la superficie de manglar, entre 1980 a 2005, con base a lo reportado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (Troche et al., 2016). En México, la extensión de manglares disminuyó 808.50 km² desde la década de 1970 hasta 2015, lo cual representa un 9.4% (Troche et al., 2016). La disminución de manglar es consecuencia del aumento y expansión de la urbanización costera, el desarrollo turístico, la extracción de crudos, producción de camarón, agricultura y ganadería (Brenner et al., 2018).



Las principales actividades antropogénicas que han reportado una afectación directa en el ecosistema del manglar son las siguientes:

2.4.1 Turismo

El desarrollo turístico en zonas con presencia de manglares ha tenido como consecuencia principal la pérdida de extensión de ecosistema debido al desarrollo de nueva infraestructura. La construcción de hoteles, casas de vacaciones, campos de golf, marinas, entre otros, provoca la remoción de manglares por operaciones iniciales de limpieza y relleno antes de la construcción de las instalaciones turísticas (Brenner et al., 2018). Además, actividades recreativas como campismo y ecoturismo en la zona de manglares afectan con la presencia de desechos humanos de manera directa en el sitio.

2.4.2 Acuicultura, Agricultura y Ganadería

Los desechos principales que la industria de la acuicultura produce son el aumento de la carga orgánica, desechos fecales y antibióticos, mientras que la agricultura y ganadería, al igual que la acuicultura, se caracteriza por el uso de antibióticos, además de fertilizantes y plaguicidas. En industrias como la acuicultura, donde son utilizadas grandes cantidades de antibióticos con la finalidad de mantener un producto inocuo, se provoca un aumento en la cantidad de microorganismos resistentes a antibióticos, debido a la alta exposición a estas sustancias antimicrobianas. Además de ello, los genes de resistencia a antibióticos son transmitidos a bacterias patógenas que se encuentran en los mismos estanques (Nogales et al., 2011).

2.4.3 Desechos industriales

Las principales industrias que afectan a los manglares con desechos de este tipo son aquellas de productos químicos, fertilizantes, refinerías de petróleo, centrales térmicas, unidades de procesamiento de metales y actividades portuarias. Estas industrias, al descargar sus residuos en ecosistemas acuáticos, afectan la calidad del agua debido al aumento de algunos nutrientes, carga orgánica y metales



pesados, lo cual tiene como consecuencia el daño a la flora, fauna y comunidad microbiana del ecosistema (Maurya y Kumari, 2021).

2.4.4 Desechos de origen hospitalario

Los desechos de este tipo que afectan manglares son principalmente aguas residuales, en las cuales se pueden encontrar fármacos que son considerados como Contaminantes Emergentes (Christou et al., 2017). Algunos de ellos son analgésicos, antibióticos, antidiabéticos, betabloqueantes, anticonceptivos, reguladores de lípidos, antidepresivos y medicamentos para la impotencia. El uso de estos productos farmacéuticos también ha aumentado su presencia en aguas subterráneas, aguas residuales de uso doméstico y escorrentía de aguas pluviales en áreas urbanas (Rodríguez-Narvaez et al., 2017).

2.4.5 Descargas de aguas residuales

Este tipo de contaminación es considerado el de mayor riesgo de origen humano debido a la presencia de materia fecal y por lo tanto bacterias fecales. Sin embargo, es sabido que las aguas residuales pasan por un tratamiento para la eliminación de este tipo de microorganismos, y por controles frecuentes para la determinación de indicadores fecales. Sin embargo, este tipo de monitoreos se desarrollan con un mayor rigor en países desarrollados. La consecuencia de la presencia de bacterias, además de virus entéricos, es la afectación de mamíferos marinos y humanos, a causa de enfermedades y el desplazamiento de las comunidades microbianas características del ecosistema por competencia de nutrientes. En el humano la consecuencia directa es el consumo de mariscos o agua infectados con este tipo de bacterias y virus (Nogales et al., 2011).

2.5 BACTERIAS MULTIRRESISTENTES A ANTIBIÓTICOS EN MANGLARES

La determinación de bacterias multirresistentes a antibióticos se ha utilizado como un bioindicador en ecosistemas expuestos a actividades antropogénicas, debido a



que este grupo de bacterias se desarrollan en ambientes con descargas de desechos humanos (Ng et al., 2018). Los sitios de descarga, que son ambientes acuáticos o sedimentos, pueden contener residuos de antibióticos o genes de resistencia. Las bacterias multirresistentes como bioindicador han sido resultado de la búsqueda de herramientas que permitan hacer una evaluación enfocada en el tipo de contaminación del ecosistema, así como las descargas de aguas residuales y la presencia de residuos de antibióticos (Ng et al., 2018).

Son diversas las actividades que pueden afectar un manglar, pero las relacionadas con la presencia de bacterias multirresistentes a antibióticos son principalmente las descargas de aguas residuales. Estos compuestos no se absorben en un 100% en el organismo humano y el restante no absorbido se desecha de manera directa en las aguas de uso doméstico a través de la orina. En la acuicultura, agricultura y ganadería, una gran porción de los antibióticos utilizados es desechado en ambientes acuáticos (Nogales et al., 2011).

2.5.1 Salud

Se ha comprobado que los entornos urbanos son una fuente importante de bacterias resistentes a antibióticos ya que la presencia de estos microorganismos es muy extendida, sobre todo en los ambientes acuáticos más próximos a la población y los cuales se encuentran más afectados (Coutinho et al., 2014).

Es por ello que además de ser un problema ambiental que afecta las comunidades microbianas características de los ecosistemas, es también un problema de salud para las comunidades cercanas, que obtienen sus alimentos a través de la pesca y ganadería. La ingesta o contacto directo con este grupo de microorganismos, sobre todo, cuando se trata de bacterias patógenas, provoca el desarrollo de enfermedades que pueden dificultar su tratamiento con antibióticos de rutina. La infección con bacterias resistentes es una de las principales causas de mortalidad y morbilidad a nivel mundial (Baptista et al., 2018). El Centro para Control de Enfermedades de Estados Unidos (CDC) estima que al menos 2 millones de



personas se infectarán con una bacteria resistente a antibióticos cada año, donde al menos 23,000 de esas personas llegarán a la muerte por causa directa a dicha infección (Lutgring et al., 2018).

2.5.2. Bacterias resistentes a antibióticos y sus mecanismos de resistencia

La resistencia a antibióticos se puede clasificar en dos grupos: Resistencia Natural o Intrínseca, la cual es una característica específica de las bacterias y su aparición es anterior al uso de los antibióticos. El segundo, Resistencia Adquirida, la cual es un cambio en la composición genética de las bacterias y constituye un problema grave en la clínica (Alós, 2015). Dentro de esta última clasificación existen diferentes mecanismos en los cuales las bacterias pueden adquirir dicha resistencia.

El primer mecanismo consiste en la incorporación del ADN libre proveniente de bacterias que pasaron por lisis y adquirido por una bacteria viva. A este mecanismo se le llama Transformación. El segundo es conocido como Transducción, y se lleva a cabo al momento de que un bacteriófago inserta en la bacteria ADN cromosómico o plasmídico. El tercer mecanismo se lleva a cabo dentro de la misma bacteria, es conocido como Transposición, debido a que una sección del ADN que contiene el gen de resistencia, puede moverse de manera libre a otra sección del ADN la cual se encuentra cercana a un promotor.

Por último, la Conjugación es un mecanismo en el que se intercambia el gen de resistencia a través de una hebra sexual o por contacto entre dos bacterias. (Calderón y Aguilar, 2017).

En cuanto a los mecanismos de acción que pueden adquirir o tener de manera natural las bacterias, existen 6 principales, los cuales actúan directamente sobre el antibiótico, teniendo un efecto de degradación, bloqueo o simple expulsión de la célula bacteriana.

Las bombas de eflujo son mecanismos en los que, a través de bombas dependientes de energía, las moléculas de antibiótico son expulsadas al exterior de la bacteria sin sufrir alteraciones (Lin, 2015). El siguiente mecanismo, a diferencia de las bombas de eflujo, sufre una modificación en su estructura por enzimas



hidrolíticas. Un ejemplo es el efecto de las Betalactamasas sobre el anillo Betalactámico. Este mecanismo es uno de los más comunes dentro de la Resistencia Adquirida.

En un tercer mecanismo, se lleva a cabo la modificación del sitio de unión del antibiótico hacia la bacteria, impidiéndole el ingreso a la misma por la pérdida de afinidad. Otro mecanismo que actúa a nivel de membrana es la alteración de la permeabilidad de la membrana bacteriana. Lo anterior se logra con el cambio del diámetro de la membrana o con la disminución en el número de porinas, con lo que le es imposible el ingreso a la molécula de antibiótico. Este mecanismo es el más común dentro de la Resistencia Natural.

El último mecanismo es la sobre-expresión del sitio blanco, donde se expresan mutaciones en los promotores de los genes del sitio blanco, provocando una producción más alta de dichas proteínas (Calderón y Aguilar, 2017).

2.5.3 Antibióticos

La utilización de los antibióticos comienza en 1928 con el descubrimiento accidental de la penicilina por el científico británico Alexander Fleming. A partir de ello, su uso en la medicina se ha considerado como esencial y ha contribuido de manera significativa en el progreso de campos donde las infecciones son prevalentes e importantes, como en trasplantes de órganos, tratamientos en pacientes inmunodeprimidos y en la cirugía (Alós, 2015).

Los antibióticos se pueden clasificar en dos grupos con base a su función. Bactericidas, cuya su acción es letal, llevando a la lisis bacteriana. Bacteriostáticos, que corresponde a las concentraciones que impiden el desarrollo y multiplicación bacteriana, pero sin llegar a destruir las células.

Además, se pueden clasificar con base a su mecanismo de acción, es decir, la manera en la que actúan al afectar la célula bacteriana. Existen inhibidores de la síntesis de proteínas que actúan sobre los componentes de los mecanismos de traducción, como el ribosoma; los inhibidores de pared celular, que bloquean su



síntesis o reparación. Aquellos que afectan la membrana celular a través de la pérdida selectiva de la permeabilidad; los que inhiben la replicación y transcripción, dañando de manera directa el material genético de la bacteria (De León et al., 2015).

La resistencia bacteriana a los antibióticos ha sido una amenaza creciente desde hace algunos años, deteriorando la eficacia de los antibióticos, lo cual lleva al aumento de la morbilidad, mortalidad y costos de los tratamientos (Alós, 2015). Un ejemplo claro es la cefotaxima, que al introducirse en la clínica en la década de los 80s, todas las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* eran sensibles; hoy en día son resistentes el 13 y el 16%, respectivamente (Alós, 2015).

La situación es tan grave, que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha calificado el problema de resistencia antimicrobiana como emergencia mundial y ha llamado a sus estados miembros a tomar medidas para mitigar su desarrollo y a estimular la búsqueda y diseño de nuevas moléculas antimicrobianas.

2.5.4. Evaluación de BMRA en manglares como bioindicador

En la búsqueda de bacterias multirresistentes a antibióticos (BMRA) en manglares, se han observado cepas de bacterias como *Aeromonas hydrophilia*, *E. coli*, *Chromobacterium violaceum*, *P. aeruginosa*, *Serratia rubideae*, *K. pneumoniae* y *Enterobacter cloacae*, que presentan una alta resistencia (60% de los aislados) a antibióticos como estreptomicina y cloranfenicol, mientras que para antibióticos β -lactámicos se presentan resistencia de hasta un 100% (Jalal et al., 2010). En este estudio, la presencia de las cepas multirresistentes y su grado de resistencia se relaciona con el alto grado de contaminación del manglar debido a las descargas directas de contaminantes. Sin embargo, no sólo se presentan diferencias entre manglares con diferente grado de contaminación. También existen factores que promueven dentro de un manglar, que se encuentren puntos que presenten diferencias en sus componentes bióticos. En un estudio se reporta que la concentración de algunos antibióticos como ciprofloxacina, tetraciclina y



norfloxacin es más baja en sedimentos con vegetación de manglares que en sedimento sin vegetación (Imchen et al., 2019).

Entonces es importante mencionar que la determinación de bacterias multirresistentes a antibióticos se puede realizar tanto en el agua suprayacente o bien en el sedimento (Bhattacharyya et al., 2019). En algunos estudios se menciona que el análisis de los sedimentos proporciona una información más certera debido a que albergan una mayor cantidad de bacterias, en comparación al agua suprayacente. Por lo tanto, la estimación de bacterias multirresistentes en sedimentos brinda un índice estable de contaminación por actividades antropogénicas para el agua a largo plazo. (Bhattacharyya et al., 2019).



3. JUSTIFICACIÓN

La zona de Baja California Sur cuenta con una gran biodiversidad debido a su clima árido-tropical, por lo que cuenta con los manglares más excéntricos del país, comúnmente llamados manglares desérticos. Sin embargo, esta biodiversidad se ha visto afectada debido al crecimiento poblacional y a la afectación por actividades antropogénicas, sobre todo de ecosistemas como los manglares.

4. HIPÓTESIS

Existe una diferencia en la presencia y cantidad de bacterias multirresistentes en sedimento de diferentes manglares árido-tropicales, con base al grado de afectación por contaminación antropogénica que presentan.

5. OBJETIVO GENERAL

Analizar la presencia de bacterias multirresistentes a antibióticos y sus perfiles fenotípicos de resistencia en sedimento de manglares de Baja California Sur con diferentes grados de afectación antropogénica y natural, con el fin de determinar si existe alguna diferencia con base a su tipo de contaminación.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la presencia de cepas bacterianas multirresistentes a antibióticos en muestras de sedimento de manglares con diferentes grados y tipos de contaminación.
- Establecer los perfiles fenotípicos de resistencia a antibióticos de bacterias multirresistentes y determinar la relación que se tiene con los subsitios de muestreo.



7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 MATERIALES Y EQUIPOS

A continuación, se enlistan los materiales y equipos utilizados en el laboratorio de Microbiología III de la Facultad de Ciencias Químicas.

7.1.2 Materiales

- Asa de platino, níquel, 3mm de diámetro (10 μ L)
- Asa de vidrio
- Cajas Petri desechables estériles
- Espátula
- Filtro de membrana de nylon 0.2 μ m
- Jeringa 5 mL
- Matraz Erlenmeyer (200, 500 y 1000 mL)
- Mechero Bunsen
- Micropipetas volumétricas (20, 100 y 1000 μ L) Eppendorf Research Plus y CTR Scientifics
- Pipeta graduada 10 y 5 mL
- Portafiltros para jeringa Millipore Swinnex
- Propipetas
- Puntillas 100 y 1000 μ L
- Tubos de ensaye 10 mL HACH

7.1.3 Reactivos

- Agua destilada
- Alcohol acetona
- Alcohol etílico 70%
- Cristal Violeta Hycel^{MR} y Golden Bell^{MR}
- NaCl
- Safranina Hycel^{MR} y Golden Bell^{MR}



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICA

- Solución salina fisiológica 0.85%
- Yodolugol Hycel^{MR} y Golden Bell^{MR}

7.1.4 Medios de Cultivo

- Agar Bacteriológico BD BioxonTM
 - Agar Nutritivo BD BioxonTM
 - Agar Trypticaseina de Soya BD BioxonTM
- Caldo Trypticaseina de Soya BD BioxonTM

7.1.5 Equipos

- Agitador Vórtex Termolyne Maxi Mix Plus
- Autoclave olla de presión Presto
- Balanza analítica Sartorius
- Balanza electrónica A&D HR Series
- Balanza granataria OHAUS Triple Beam Balance
- Baño María VWR Scientific modelo 1203
- Campana de Bioseguridad LABCONCO Purifier Class II Delta Series
- Campana de Seguridad Biológica NUAIRE Class II type A/B3
- Congelador -20°C Norlake Scientifics
- Incubador 37°C Fisher Scientific
- Microscopio Olympus CX21LED
- Refrigerador 5°C Torrey CT-R

7.2 MÉTODOS

7.2.1 DELIMITACIÓN DE ÁREAS DE ESTUDIO Y DESCRIPCIÓN DE SUBSITIOS

El grupo de Ecología Vegetal y Botánica del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) y el grupo de Microbiología Ambiental de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua determinaron las estrategias de muestreo, delimitación de sitios en campo y realizó la selección de

sitios y parcelas de muestreo. El muestreo se realizó en 3 manglares (Manglar Bahía Magdalena, Manglar Mogote Ensenada La Paz y Manglar Carretera Aeropuerto-La Paz) en la región de Baja California Sur, México, en noviembre de 2019.

Los sitios de muestreo fueron seleccionados debido a sus características y a las diferentes actividades antropogénicas que se llevan a cabo a su alrededor, algunos de ellos con perturbaciones naturales y otros como sitios caracterizados por una exposición prolongada a contaminantes.



Figura 1. Manglares a estudiar en Baja California Sur. Ubicación de manglares a estudiar en el estado de Baja California Sur. **Bahía Magdalena** (Manglares San Carlos Conservado y San Carlos perturbado), **Ensenada de La Paz** (Manglar Mogote) y **Carretera Aeropuerto La Paz Marina Sur** (Manglar Cola de Ballena). Imagen tomada de Google Earth.

7.2.1.1 Manglar Bahía Magdalena, Puerto San Carlos

En él se encuentran especies de manglar categorizadas como amenazadas en la NOM-059-SEMARNAT-2010: *Rhizophora mangle*, *Avicennia germinans* y *Laguncularia racemosa*. Además, es uno de los sitios de reproducción de la ballena gris. Por lo anterior se encuentra dentro de la categoría de Área Natural Protegida.

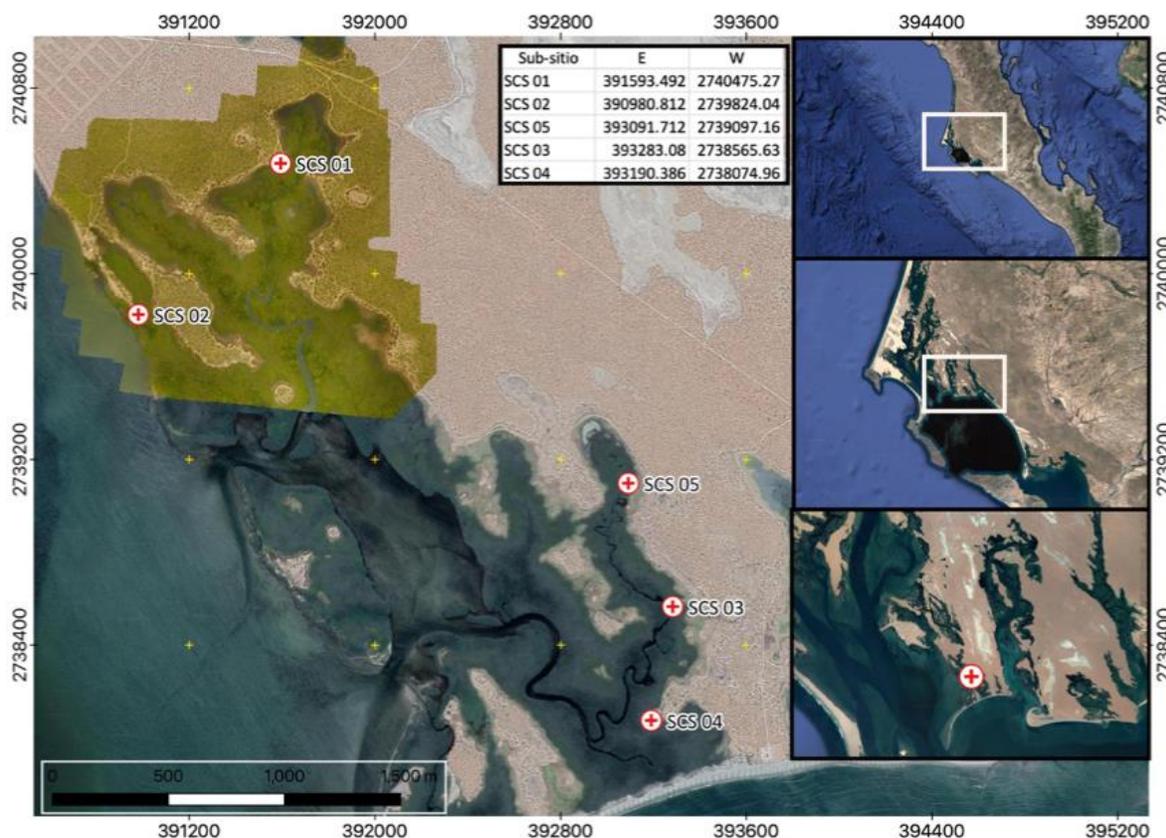


Figura 2. Manglar San Carlos, subsitio conservado. Ubicación y coordenadas de Manglar Bahía Magdalena - San Carlos Conservado con subsitios de muestreo.

Dentro del Manglar Bahía Magdalena en Puerto San Carlos, fueron seleccionados dos subsitios de muestreo, uno de los cuales fue considerado como conservado (Figura 2) debido a la ubicación y a las características que presenta. Dicho subsitio es considerado una zona de pesca importante ya que cuenta con dos puertos (Puerto Mateos y Puerto San Carlos), por lo que el principal desecho que se observa en la zona es la acumulación de conchas debido a la captura de bivalvos.

En el sitio no se observa algún otro tipo de desechos ni contaminación, es por ello que este subsitio de muestreo es considerado como un sitio libre de desechos humanos.

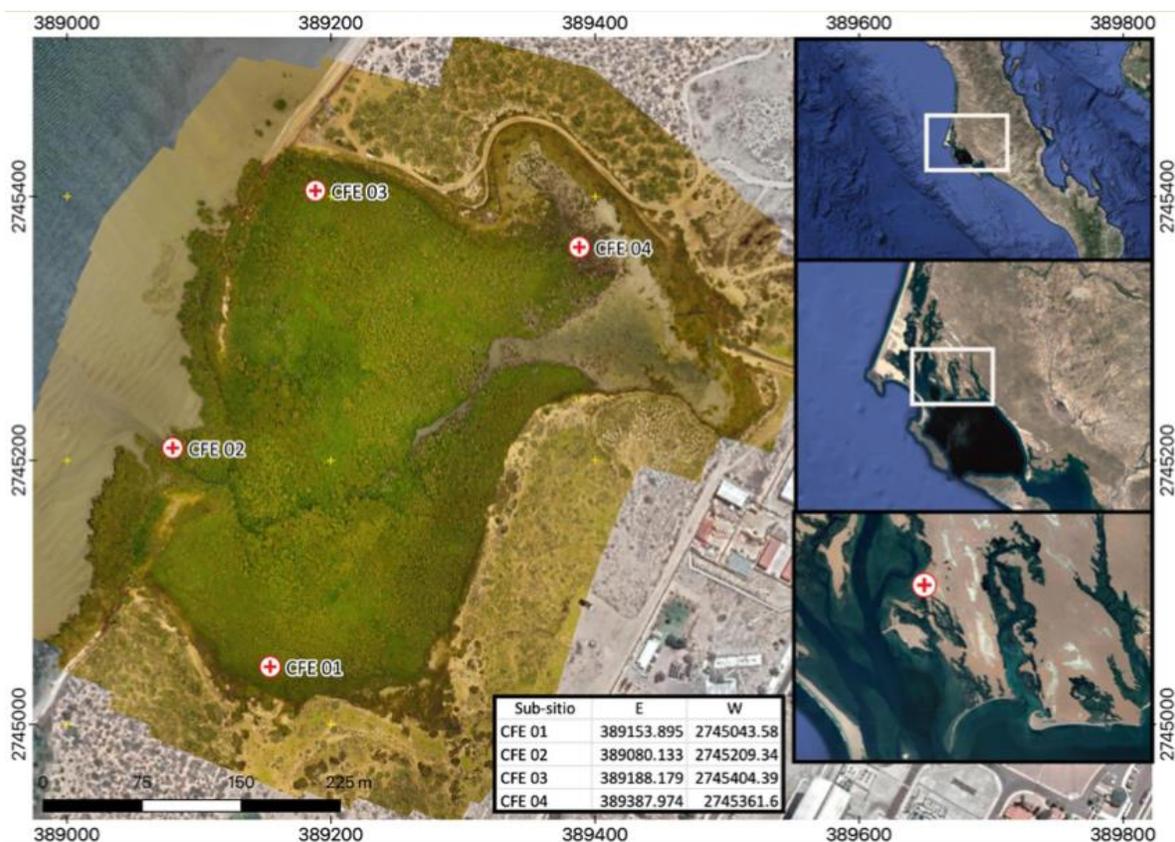


Figura 3. Manglar San Carlos, subsitio perturbado. Ubicación y coordenadas de Manglar Bahía Magdalena - San Carlos Perturbado con subsitios de muestreo.

El segundo subsitio del Manglar Bahía Magdalena – Puerto San Carlos es un sitio que se encuentra en la región sur del puerto y es considerado como perturbado, debido a su cercanía con la planta de la CFE y que es atravesado por el canal de desechos de las chimeneas de dicha planta.

En la Figura 3 se observa una marca seca cercana al punto CFE04, la cual ha estado presente por más de 20 años, ocasionando la muerte de la vegetación que se encontraba en la zona.

7.2.1.2 Manglar Mogote, Ensenada de La Paz

Es una laguna costera que se encuentra cercana a La Paz. Esta separada de la Bahía de La Paz por una barrera arenosa y cuenta con aportes de agua pluvial en

temporada de verano. Los manglares de esta zona cuentan en su mayoría con planicies de inundación intermareales.

La comunidad de mangle es principalmente *Avicennia germinans* (manglenegro) y *Rhizophora mangle* (mangle rojo). Además, es un sitio con más de 20,000 aves playeras migratorias de paso hacia el sur, dentro de las cuales podemos encontrar a el playero occidental (*Calidris mauri*), tildillo (*Charadrius alexandrinus*), tildillo semipaleado (*Charadrius semipalmatus*), picocurvo (*Numenius phaeopus*), y picopando (*Limosa fedoa*) (Salgado et al., 2008). El manglar Mogote se encuentra bajo la protección de la normativa RAMSAR debido a que son áreas de importancia para la anidación, de paso de aves migratorias y algunas especies de aves se encuentran bajo protección especial por la NOM-059-SEMARNAT-2010.

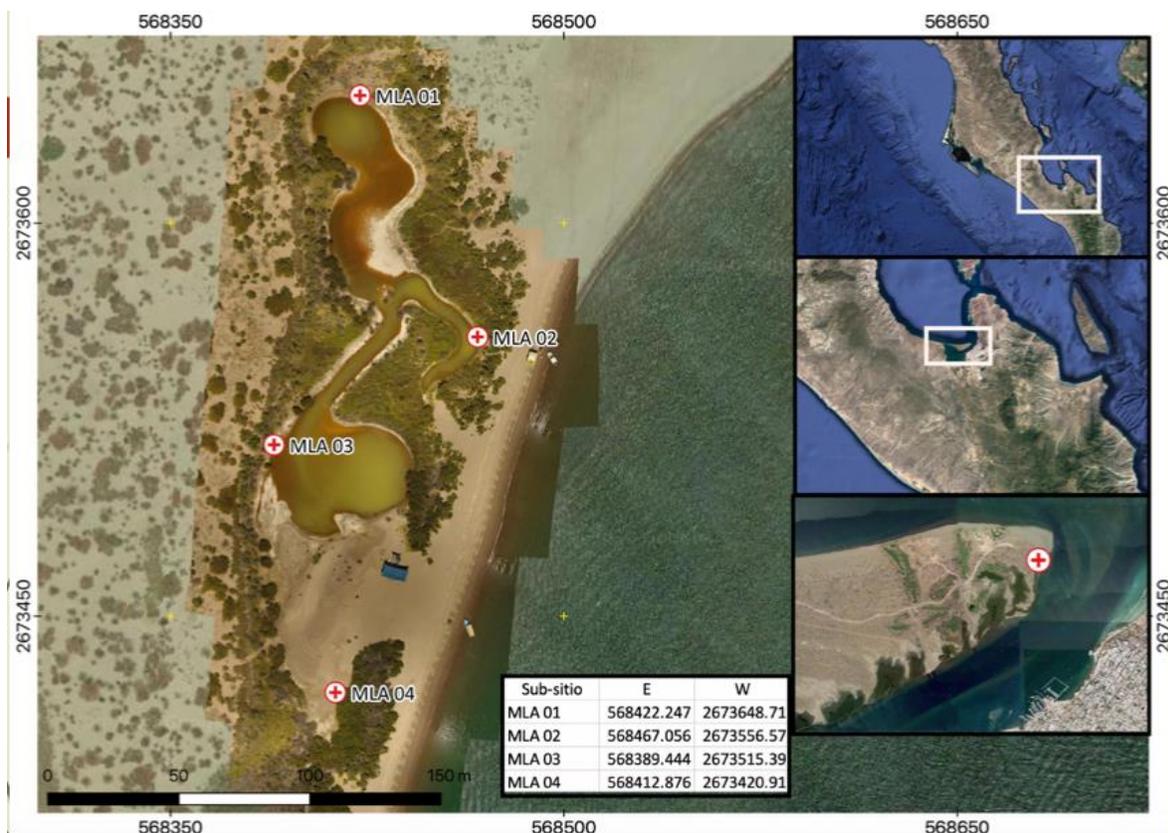


Figura 4. Manglar Lagunitas, subsitio perturbado. Ubicación y coordenadas de Manglar Mogote – Ensenada La Paz Perturbado con subsitios de muestreo.

El primer subsitio de muestreo es Manglar Lagunitas, que es un sitio que presenta una perturbación de origen natural con la obstrucción del canal mayor y menor de alimentación, ocasionada por el Huracán Odile en 2014.

Como se observa en la Figura 4, el subsitio de muestreo ML04 es una zona que dejo de ser manglar, ya que la vegetación de mangle murió y en la zona se puede encontrar vegetación característica de zonas terrestres. Además, este sitio es donde se encontraba la boca mayor de alimentación del manglar.

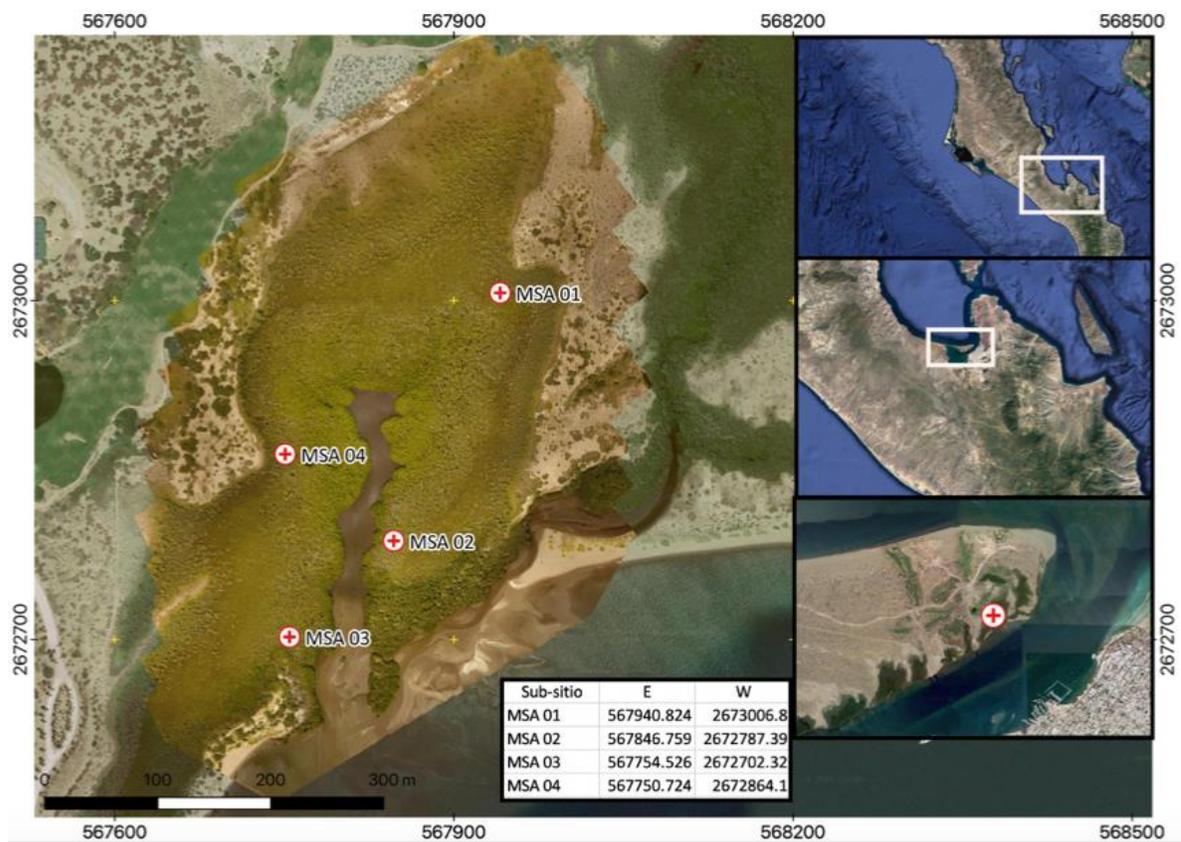


Figura 5. Manglar Mogote, subsitio conservado. Ubicación y coordenadas de Manglar Mogote – Ensenada La Paz Conservado con subsitios de muestreo.

El subsitio conservado de es Manglar Mogote, el cual es un sitio que se encuentra en condición aparentemente estable y es considerado como un manglar sano. Cuenta con una boca de alimentación amplia proveniente de la Bahía de La Paz.

Es un sitio que sólo se observa basura humana por el acarreo natural causado por el alto oleaje en los puntos cercanos al subsitio MSA02 (Figura 5).

7.2.1.3 Manglar Cola de Ballena, Carretera Aeropuerto – La Paz, Marina Sur.

Es un manglar que se encuentra en el sureste de la ciudad de La Paz, a menos de 9 Km del Aeropuerto. Es un sitio alimentado durante décadas por las descargas de aguas residuales de la Planta de Tratamiento aguas residuales de la ciudad de de La Paz.

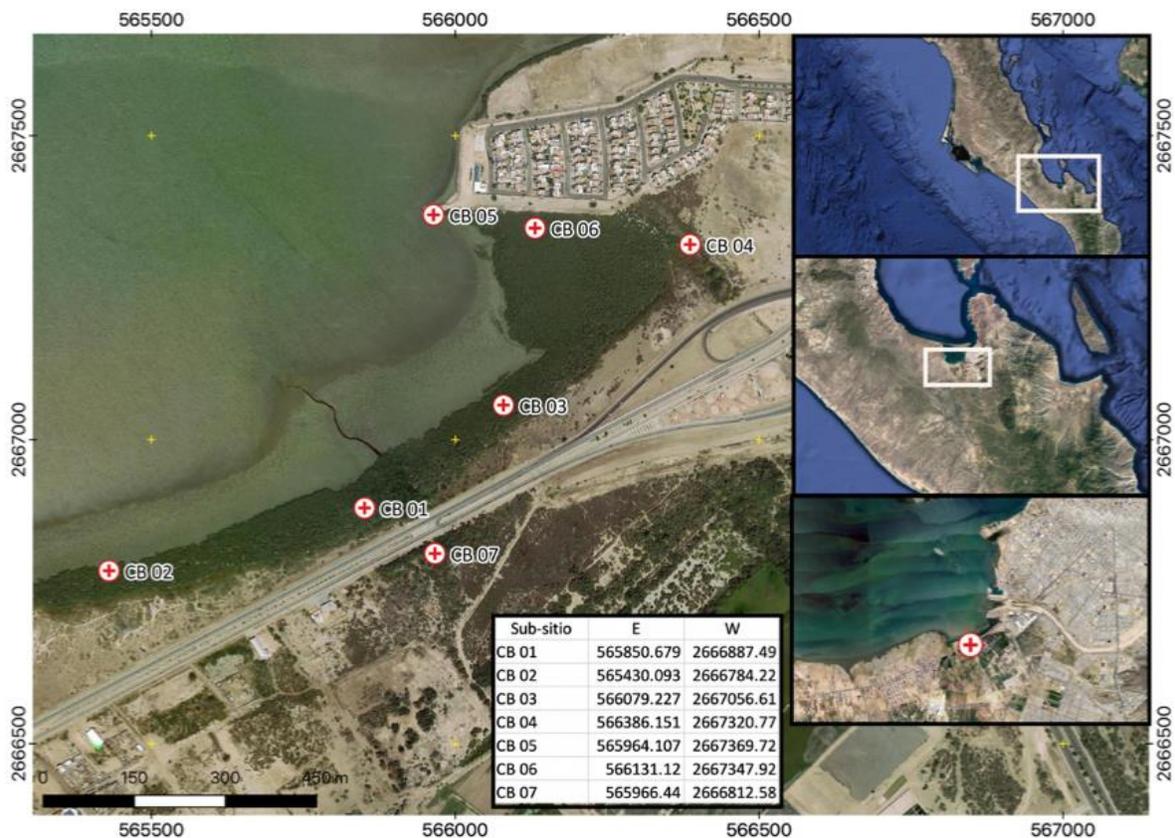


Figura 6. Manglar Cola de Ballena, Carretera Aeropuerto – La Paz. Ubicación y coordenadas de Manglar Cola de Ballena, Aeropuerto - La Paz Conservado con subsitios de muestreo.



El manglar Cola de Ballena es un sitio considerado como un sitio perturbado debido a las descargas de aguas residuales, la contaminación por efluentes agrícolas, así como su cercanía con la población de La Paz.

En la Figura 6, se observan los subsitios de muestreo seleccionados para este estudio. Fueron considerados 3 subsitios conservados, los cuales son CB04, CB05 y CB06 que se encuentran cercanos a la Marina Sur y a una zona habitada. Mientras que los sitios perturbados son CB01, CB02 y CB03, debido a su cercanía con los efluentes de la planta de tratamiento de aguas residuales, siendo CB01 el más próximo.

El subsitio de muestreo CB07 cuenta con vegetación secundaria, no cuenta con manglar, y el suelo es diferente. Es una zona en la que se llega a presenciar comercio rural.

7.2.2 TOMA DE MUESTRAS DE SEDIMENTO PARA EL AISLAMIENTO DE BACTERIAS

Las muestras fueron proporcionadas por el equipo de trabajo de la Universidad Autónoma de Chihuahua y por el grupo de trabajo del CIBNOR. Mediante un nucleador se recolectaron muestras de sedimento en los diferentes subsitios (perturbado y no perturbado) a tres diferentes profundidades: (0 - 15 cm, 15 - 30 cm y 30 - 50 cm) y en diferentes puntos de muestreo en cada uno de los manglares, y finalmente se almacenaron en bolsas resellables a -80 °C. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Microbiología III de la Facultad de Ciencias Químicas, para ser secadas a temperatura ambiente para su posterior análisis.

7.2.3 DETERMINACIÓN DE LAS CEPAS MULTIRRESISTENTES

Para el aislamiento de las cepas multirresistentes se seleccionaron antibióticos relacionados con el uso acuícola y ganadero de la región, además de los más utilizados en el tratamiento de infecciones en humanos y animales.



La metodología propuesta por Palacios y colaboradores (2017) fue modificada, por lo que el primer aislamiento de las cepas se realizó con base a diferentes concentraciones de salinidad (0, 1.5 y 3% de NaCl p/v) para adaptar los medios a las concentraciones de salinidad características del ecosistema de manglar.

Posterior al primo aislamiento, las cepas fueron sometidas a pruebas de resistencia a antibióticos en medios con los 7 diferentes antibióticos seleccionados (ampicilina, kanamicina, vancomicina, tetraciclina, ciprofloxacina, cloranfenicol y cefotaxima).

La concentración de los antibióticos para la preparación de los medios se determinó según los criterios del CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) (Cantón et al., 2000).

7.2.3.1 Aislamiento primario de las cepas en función del grado de tolerancia a la salinidad

Se trabajó con muestras de sedimento, de las que se prepararon 4 diluciones (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4}) utilizando 1 g de sedimento en 9 mL de solución salina estéril. Las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} se cultivaron por el método de extensión en placa en medio TSA (soya tripticaseína) suplementado con 0, 1.5 y 3% p/v de NaCl y se incubaron durante 48 horas a 36 ± 0.2 °C. Posteriormente, se seleccionaron aquellas cepas que presentaron características diferentes en su morfología colonial y se aislaron en medio TSA respetando la concentración de salinidad del medio en el que se presentó el crecimiento.

Los aislados fueron inoculados en medios en placa hasta obtener cepas puras y posteriormente se almacenaron en medios TSA en tubo de pico de flauta con diferentes concentraciones de NaCl.

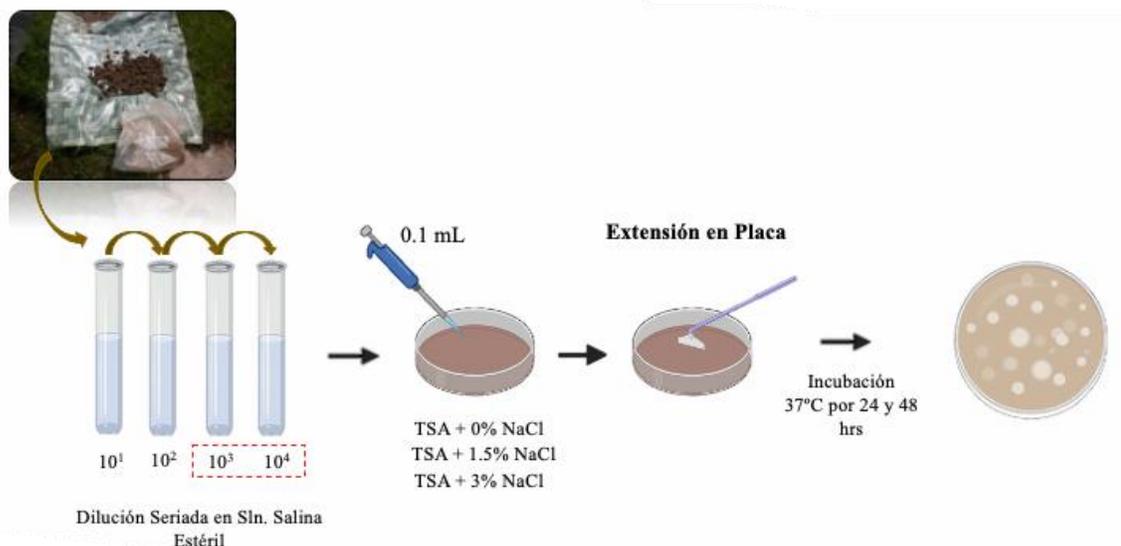


Figura 7. Metodología para el aislamiento primario de las cepas. En función del grado salinidad, esquematizado.

7.2.3.2 Determinación de perfil fenotípico de resistencia a antibióticos

La determinación de la multirresistencia se realizó mediante cultivo en caja de Petri con adición de cada uno de los antibióticos seleccionados (Ampicilina 10 µg/L, kanamicina 30 µg/L, cloranfenicol 30 µg/L, cefotaxima 30 µg/L, ciprofloxacina 5 µg/L, vancomicina 30 µg/L y tetraciclina 30 µg/L).

Para ello se prepararon diluciones madre del antibiótico a una concentración de 10,000 µg/ml en etanol para cloranfenicol, cefotaxima y tetraciclina, y en agua destilada estéril para ampicilina, kanamicina, ciprofloxacina y vancomicina. Posteriormente, las diluciones fueron filtradas con un sistema de microfiltros estériles adaptados a jeringa y almacenados en tubos Eppendorf de 1mL en congelación.

A partir de la dilución madre se tomaron de 7.5 a 15 µL por cada 100 mL de medio TSA a preparar, según sea la concentración final deseada en el medio y se disolvieron en el medio de cultivo estéril a una temperatura no mayor de 50 °C. Ya preparados los medios en caja de Petri, adicionados con los antibióticos, se realizó

la inoculación de las cepas aisladas con un asa de nicromo recta por picadura en las 7 placas con medio TSA suplementado con NaCl y con cada uno de los 7 antibióticos. Luego, se incubaron a 36 ± 0.2 °C durante 24 horas. La presencia de crecimiento colonial en el medio indica resistencia a estos antibióticos. Se consideran cepas multirresistentes aquellas cepas que muestran crecimiento en presencia de 3 o más antibióticos (Magiorakos et al., 2012).

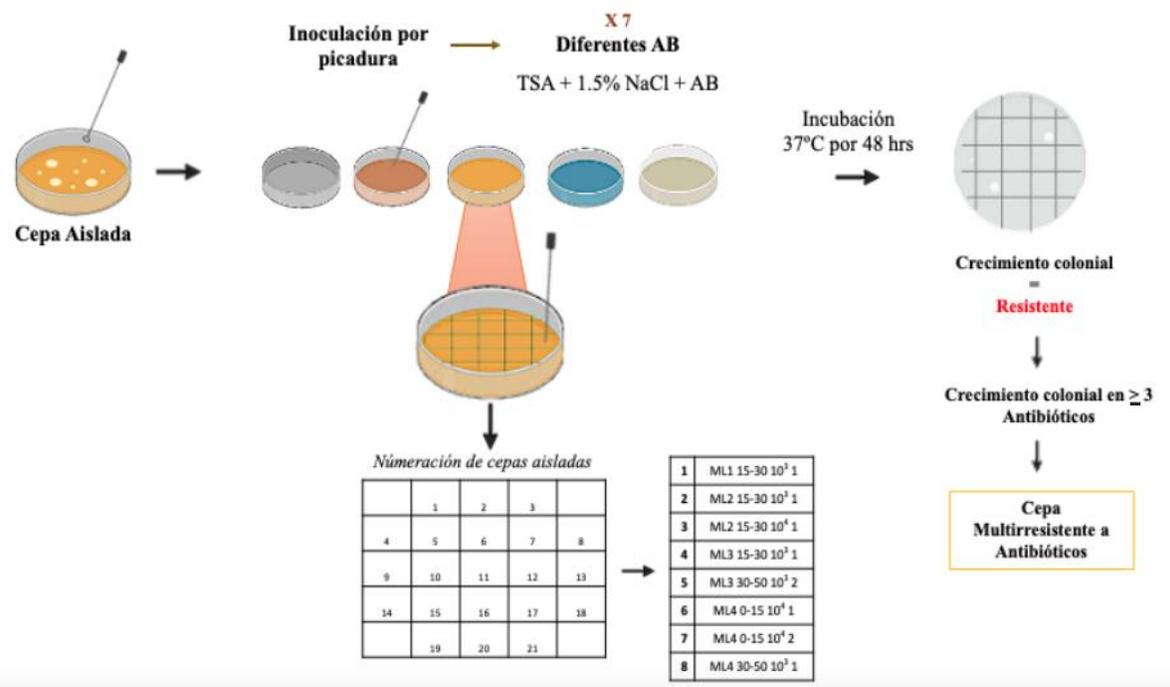


Figura 8. Metodología para la selección de cepas multirresistentes a antibióticos, esquematizado.

7.2.3.3 Análisis fenotípico de los patrones multirresistentes

Se realizó un análisis de conglomerados con los perfiles fenotípicos de resistencia a los antibióticos, de los aislados de los diferentes tipos, seleccionando como variables el subsitio de la muestra y el perfil fenotípico de resistencia de cada una de las cepas. Para el análisis, se codificaron los resultados de la resistencia a los antibióticos, considerando un 1 para aquellos que fueron resistentes y 0 para los que fueron susceptibles.



Para el análisis de conglomerados, se utilizó un método de vinculación completo y una medición a distancia euclidiana, con un nivel de similitud del 95% para la identificación de los conglomerados. A partir de estos resultados, se seleccionaron las cepas a considerar en el resto del análisis (Minitab ver 18).

7.2.3.4 Análisis estadístico de Análisis de Varianza de Anidados y Comparación Morfotipos

Para valorar las abundancias relativas de aislados multirresistentes en los diferentes sitios, se realizó un análisis de varianza anidado completo, considerando como variables independientes el manglar, el subsitio, la profundidad de la muestra y la salinidad en el medio de aislamiento primario. Se realizó una prueba de análisis de medias por Tukey en los casos en donde se observaron diferencias significativas. El análisis estadístico se realizó mediante el software Minitab 18, utilizando un nivel de significancia de 0.05.



8 RESULTADOS

8.1 Estandarización de la metodología

8.1.1 Aislamiento primario de las cepas en función del grado de tolerancia a la salinidad

El establecer una metodología que permitiera el aislamiento de bacterias multirresistentes en un total de 81 muestras y que fuera posible hacer pruebas a cada una de las bacterias aisladas, fue uno de los primeros objetivos para llevar a cabo la determinación de bacterias multirresistentes y perfiles de resistencia fenotípicos.

Inicialmente se realizaron pruebas para el desarrollo de bacterias en medio TSA adicionado con 3 diferentes concentraciones de salinidad (0%, 1.5% y 3% NaCl) con el fin de adecuar el medio a las condiciones del ecosistema, sin llegar a ser un medio con concentraciones marinas. El crecimiento colonial se presentó en los tres medios por lo que se decidió conservar las 3 concentraciones de NaCl en el medio TSA para cada una de las muestras.

Para el procesamiento de la muestra de sedimento se realizaron 4 diluciones seriadas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4}) para posteriormente realizar la inoculación en los medios TSA con NaCl por extensión en placa.

8.1.2 Selección de cepas multirresistentes

Debido a la alta cantidad de bacterias que se esperaba obtener de las muestras el método más adecuado ha sido descrito por Palacios y colaboradores (2017), ya que con dicha metodología es posible inocular hasta 25 cepas bacterianas diferentes en un mismo medio de cultivo con antibiótico. En esta metodología se realiza un primo-aislamiento en medio TSA con ampicilina ($10\mu\text{g/mL}$) para obtener bacterias resistentes y posteriormente hacer pruebas con 5 antibióticos más de diferentes grupos. Este primo-aislamiento se modificó para la metodología a establecer para este trabajo y se llevó a cabo un aislamiento primario de cepas con base en



diferentes concentraciones de salinidad para realizar posteriormente las pruebas de multirresistencia en medios con los 7 diferentes antibióticos seleccionados, como una segunda etapa. Lo anterior con el fin de incluir aquellas bacterias que presentaran resistencia a antibióticos diferentes a ampicilina y nos descartarlas desde una primera etapa.

Para corroborar que la metodología fuera efectiva se realizaron controles. El control positivo constaba de sedimento en dilución, inoculado con *P. aeruginosa* E26 y *E. coli* E30, multirresistentes proporcionadas por el laboratorio de Microbiología III. Mientras que el control negativo constaba de sedimento en dilución estéril. Ambos controles fueron inoculados en medios TSA adicionados con los 7 antibióticos a probar e incubados a 37 °C por 24 hrs.

8.1.3 Análisis fenotípico de los patrones multirresistentes

Al obtener los resultados de multirresistencia de cada una de las bacterias, se tenía la duda de la presencia de la misma cepa por duplicado dentro de los resultados, puesto que se tenía sólo el análisis de la morfología colonial de las cepas.

Es por ello que se propuso el Análisis de Congloremados de Observaciones, el cual compara los patrones de resistencia que se repiten y se verifica si esas bacterias con el mismo patrón pertenecen al mismo subsitio de muestreo. Si es así, se revisa la morfología macroscópica y microscópica de la bacteria para determinar si efectivamente corresponde a la misma o no. En el caso de también presentar las mismas características macroscópicas y microscópicas, solo se conserva uno de los aislados.

8.2 Selección de cepas multirresistentes

8.2.1 Análisis de Conglomerados para la selección de cepas multirresistentes.

Los resultados obtenidos del análisis de conglomerados muestran una disminución en el número de cepas multirresistentes aisladas (Tabla 1) obteniendo un total de 408 aislados multirresistentes. Esto permitió identificar aquellos aislados que se presentaron más de una vez en los resultados reportados de cepas multirresistentes por subsitio. De esta manera, se redujo un 24.8% el número de aislados considerados como diferentes.

Tabla 1. Cantidad de aislados multirresistentes pre y post conglomerados. Cantidad total de aislados por manglar antes y después del análisis de conglomerados en base a sus perfiles fenotípicos de resistencia. Mogote Conservado (MM), Lagunitas Perturbado (ML), San Carlos Perturbado (CFE), San Carlos Conservado (SCC) y Carretera Aeropuerto-La Paz (CdB).

	MM	ML	CFE	SCC	CdB	<i>Total</i>
Cepas multirresistentes aisladas	103	49	82	63	246	543
Cepas multirresistentes después de análisis de conglomerados	66	38	59	54	191	408

Del análisis de conglomerados se obtuvieron los dendogramas para cada uno de los manglares evaluados, mostrando la agrupación de aislados hasta con un 95% de similitud (Figuras 9-12).

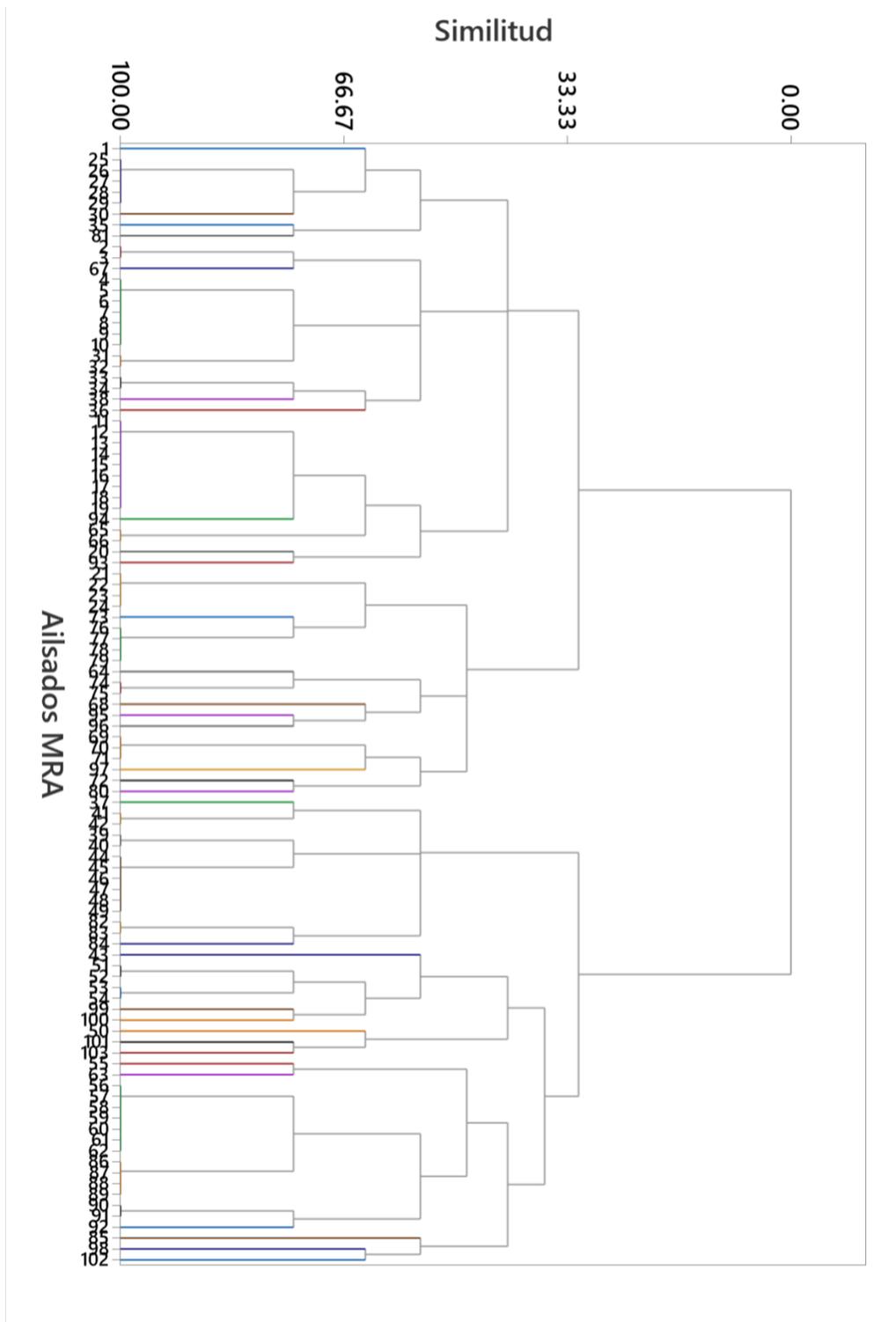


Figura 9. Dendogramas de análisis de conglomerados de Manglares Mogote (MM) y Lagunitas (ML). Del análisis se obtuvieron un total de 52 clústeres para manglar Mogote y 32 para manglar Lagunitas

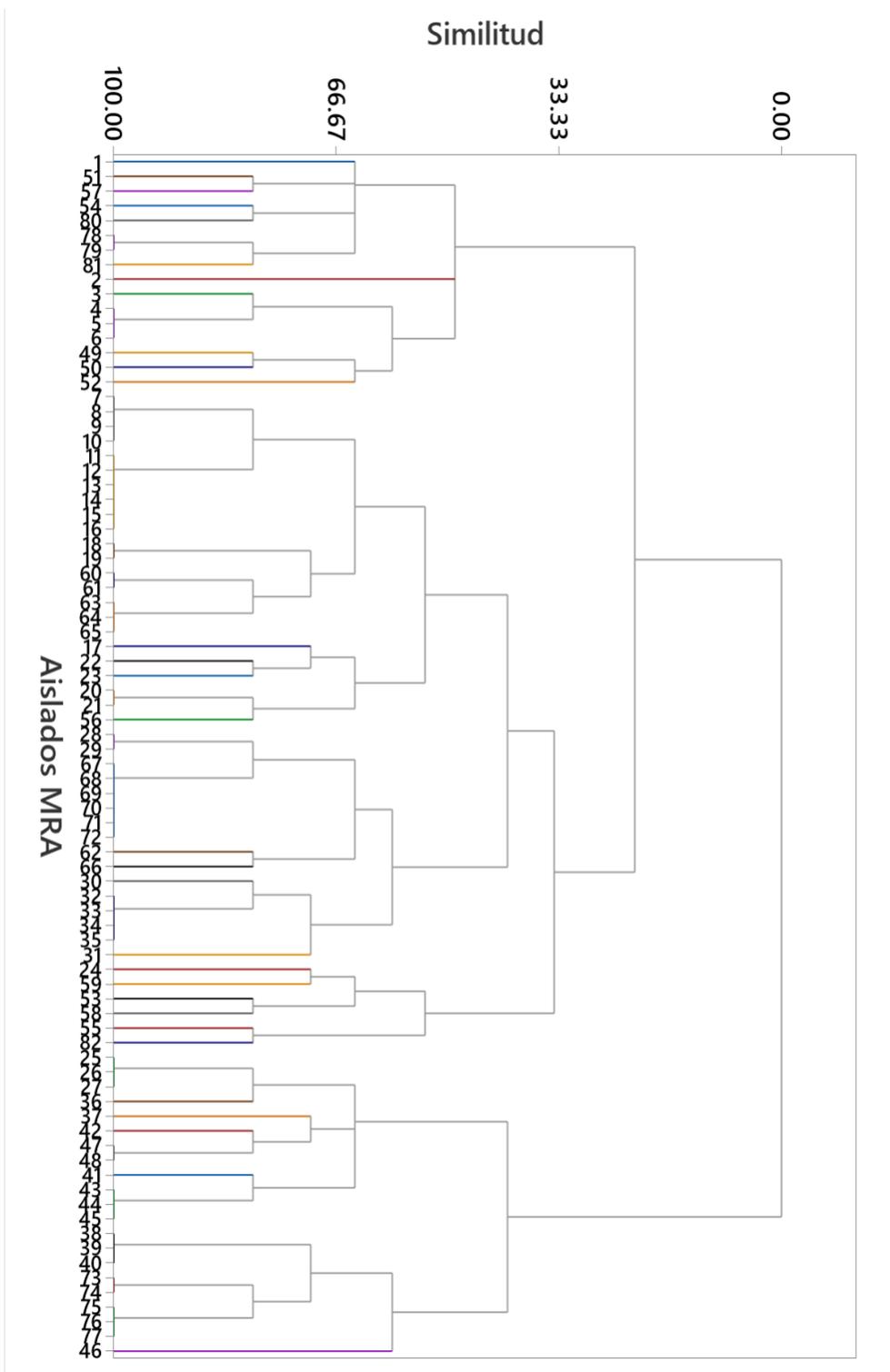


Figura 10. Dendogramas de análisis de conglomerados de Manglar San Carlos Perturbado (CFE). Del análisis se obtuvieron un total de 47 clústeres.

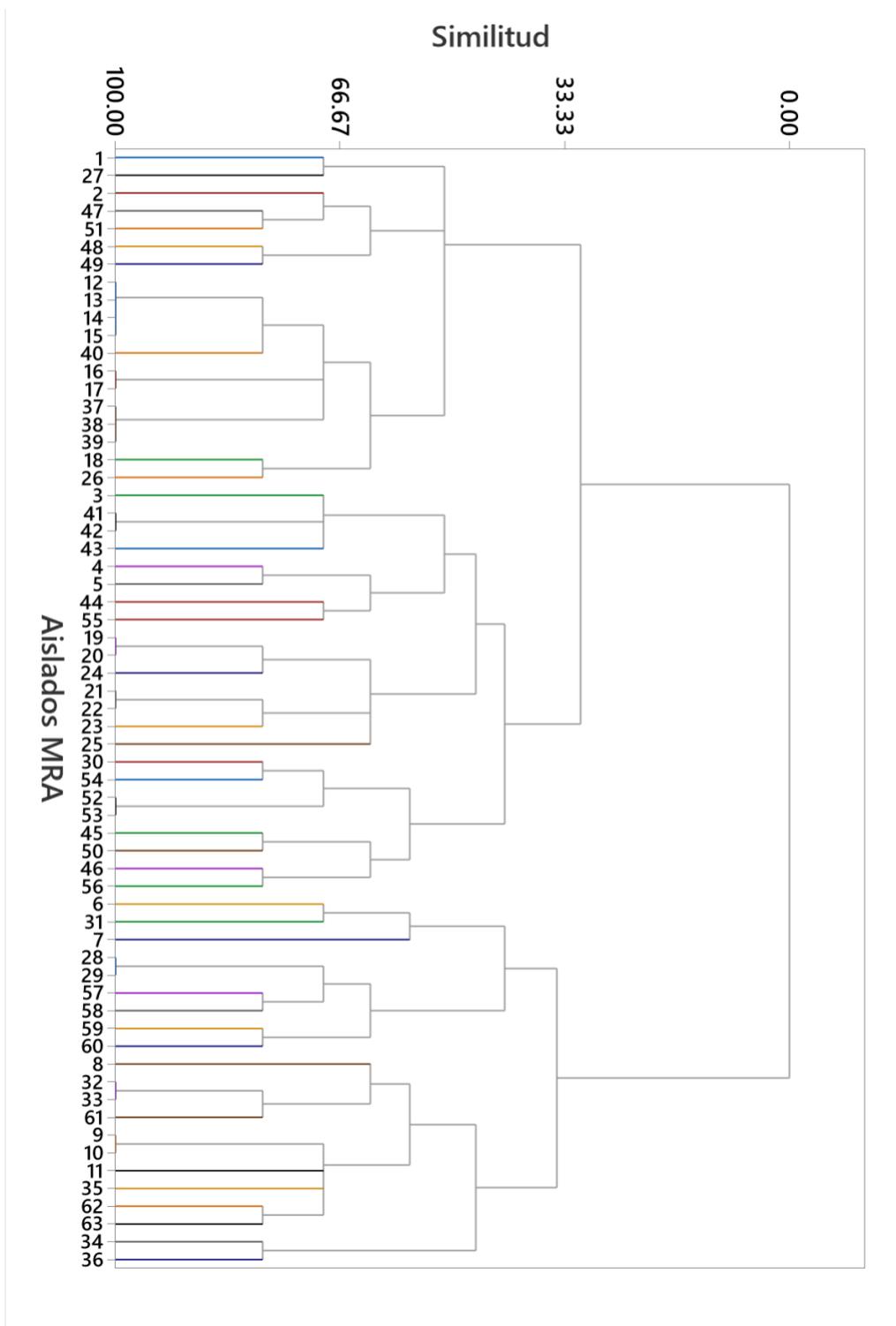


Figura 11. Dendogramas de análisis de conglomerados de Manglar San Carlos Conservado (SCC). Del análisis se obtuvieron un total de 50 clústeres.

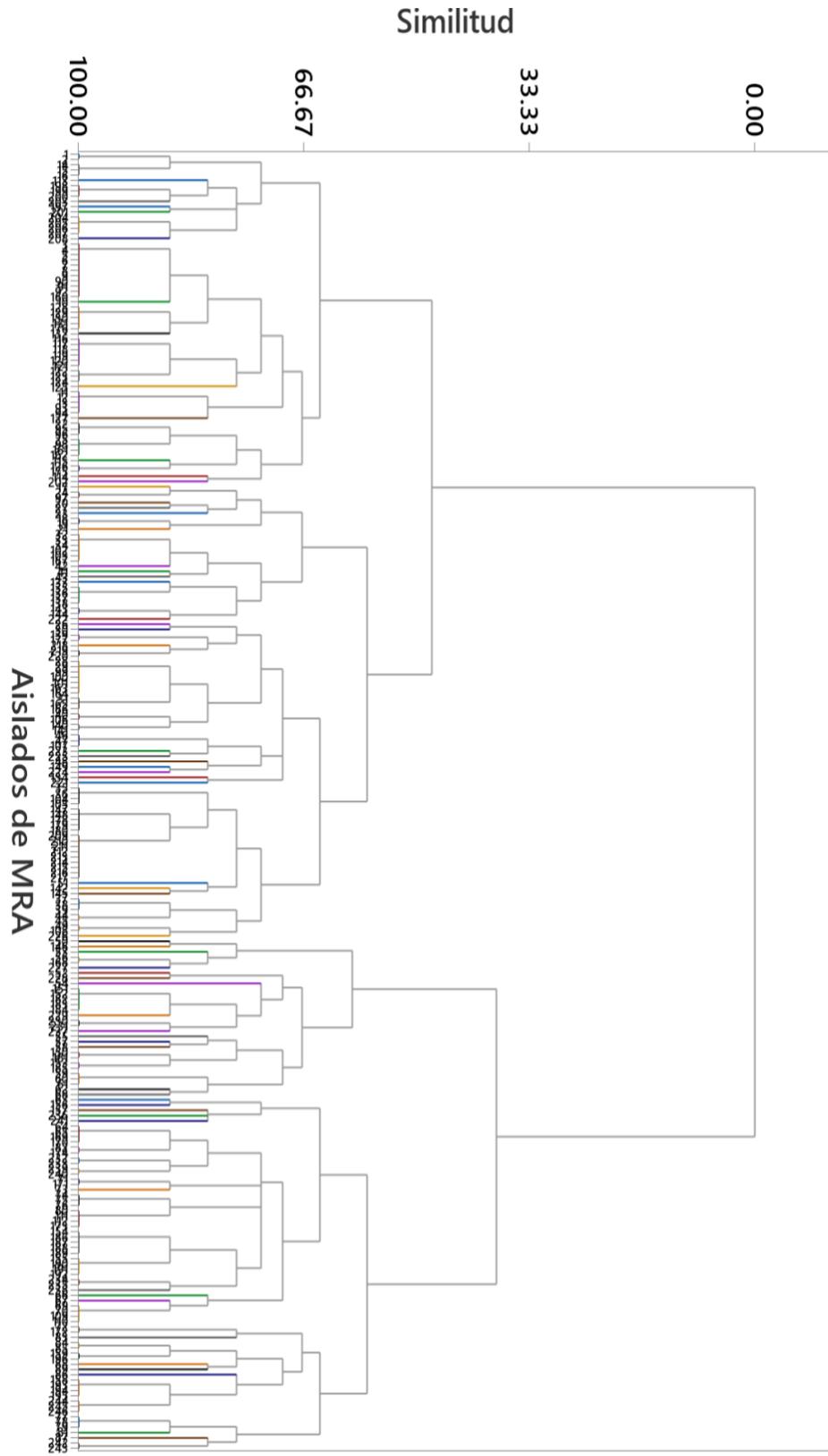


Figura 12. Dendogramas de análisis de conglomerados de Manglar Carretera Aeropuerto – La Paz (CDB). Del análisis se obtuvieron un total de 119 clústeres.

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran un total de 408 bacterias multirresistentes aisladas para el total de 3 manglares estudiados, con base al criterio de 3 o más resistencias a diferentes grupos de antibióticos (Figura 13) (Magiorakos et al., 2012).

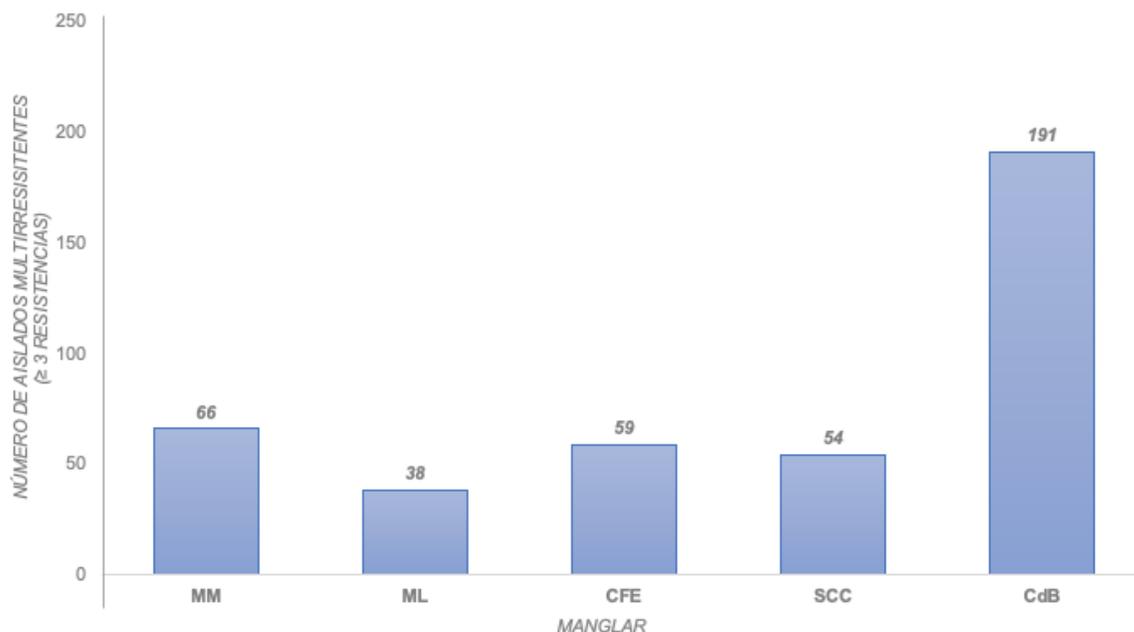


Figura 13. Aislados multirresistentes totales por manglar. Resultados de total de aislados multirresistentes para cada uno de los manglares: Mogote Conservado (MM), Lagunitas Perturbado (ML), San Carlos Perturbado (CFE), San Carlos Conservado (SCC) y Carretera Aeropuerto-La Paz (CdB).

De los 5 manglares, el que presentó un mayor número de bacterias multirresistentes fue el Manglar Carretera Aeropuerto-La Paz (Cola de Ballena), con un total de 191 aislados, lo que representa un 46.8% del total de bacterias multirresistentes. Dicho manglar ha presentado descargas de aguas residuales durante años por la planta tratadora de aguas residuales de La Paz, por lo que la cantidad de materia orgánica,

así como la de algunos nutrientes para los microorganismos es mayor en este lugar (Tabla 2).

Tabla 2. Aislados por subsitio de *muestreo*. Promedio de aislados por subsitio de muestreo de cada uno de los manglares evaluados. Mogote Conservado (MM), Lagunitas Perturbado (ML), San Carlos Perturbado (CFE), San Carlos Conservado (SCC) y Carretera Aeropuerto-La Paz (CdB).

Las medias que no comparten letra igual, son significativamente diferentes. Agrupación de información de manglares a evaluados mediante el método de Tukey, con un 95% de confianza.

<i>Manglar</i>	<i>Número de muestras</i>	<i>Promedio del número de aislados por muestra</i>
<i>CdeB</i>	72	2.6 ± 2.07^A
<i>MM</i>	36	1.7 ± 1.47^B
<i>ML</i>	36	1.0 ± 1.45^B
<i>SCC</i>	45	1.2 ± 1.25^B
<i>CFE</i>	45	1.3 ± 1.06^B

Al comparar la cantidad de aislados multirresistentes obtenidos para cada una de las profundidades se observa un mayor número de aislados en las capas superiores (Tabla 3). Sin embargo, al evaluar los resultados con un análisis de varianza, se observa que la cantidad de aislados obtenidos por profundidad no es significativamente diferente entre ellos (**Anexo I**).

Tabla 3. Cepas multirresistentes y profundidad. Comparación de cepas multirresistentes en aislados de los 5 manglares evaluados en base a la profundidad del *sedimento*. Mogote Conservado (MM), Lagunitas Perturbado (ML), San Carlos Perturbado (CFE), San Carlos Conservado (SCC) y Carretera Aeropuerto-La Paz (CdB).

<i>Profundidad</i> (cm)	<i>MM</i>	<i>ML</i>	<i>CFE</i>	<i>SSC</i>	<i>CdB</i>	<i>Total por</i> <i>Profundidad</i>
0 – 15	19	26	20	18	71	154
15 – 30	29	5	23	13	66	136
30 – 50	16	7	16	23	54	116
50 – 70	2	0	0	0	0	2

8.3 Comparación de cepas multirresistentes en subsitios conservados y perturbados

En la comparación mostrada en la Tabla 2 se puede observar que la cantidad de aislados multirresistentes en los manglares no parece ser mayor por el efecto por actividades antropogénicas en las comparaciones de los subsitios para los manglares de Mogote y de San Carlos Conservado, lo cual es diferente a lo mencionado en la bibliografía.

El Manglar Lagunitas se caracteriza por presentar una perturbación natural, en la que se obstruyeron sus canales de alimentación principal debido al Huracán Odile en septiembre del 2014. Dichos canales volvieron a ser abiertos de manera artificial, sin embargo, debido a las corrientes litorales y la consecuente acumulación de sedimentos, se han mantenido obstruidos. En dicha obstrucción se han desarrollado actividades turísticas como campismo (López, 2013), sobre todo en el sitio ML4, por lo que es el punto de muestreo en el que se esperarían una mayor cantidad de bacterias resistentes, debido a los desechos humanos. Sin embargo, los resultados



de la Tabla 4 muestran que no se observa una diferencia estadísticamente significativa de la cantidad y el promedio de aislados multirresistentes entre cada uno de los subsitios de muestreo.

Tabla 4. Aislados por subsitio Manglar Lagunitas. Número y promedio de aislados por subsitio de muestreo. Las medias que no comparten letra igual, son significativamente diferentes.

<i>Subsitio</i>	<i>Promedio de aislados por subsitio</i>	<i>Número Total de Aislados</i>
ML1	3.556 / \pm 1.323 ^A	6
ML2	2.333 / \pm 1.166 ^A	8
ML3	4.444 / \pm 2.128 ^A	14
ML4	2.111 / \pm 1.054 ^A	10

El Manglar Mogote es un sitio considerado como conservado, no presenta actividades antropogénicas cercanas, ni desarrollos turísticos, además de que cuenta con una evidente abundancia de vegetación. Los resultados que se observan en la Tabla 5, presentan un mayor número de bacterias multirresistentes a antibióticos en el sitio MM1, el cual es el más alejado del canal principal de alimentación del manglar, conforme el subsitio es más cercano a dicho canal, el número de bacterias multirresistentes disminuye. Sin embargo, el análisis estadístico muestra que no hay diferencia significativa entre la cantidad y promedio de aislados multirresistentes en cada uno de los subsitios de muestreo (Tabla 6).

Tabla 5. Aislados por subsitio Manglar Mogote. Número y promedio de aislados por subsitio de muestreo. Las medias que no comparten letra igual, son significativamente diferentes.

<i>Subsitio</i>	<i>Promedio de aislados por subsitio</i>	<i>Número Total de Aislados</i>
MM1	2.444 / \pm 1.740 ^A	24
MM2	1.556 / \pm 2.128 ^A	14
MM3	1.444 / \pm 0.882 ^A	13
MM4	1.667 / \pm 0.707 ^A	15

En la Tabla 2, se puede observar, al hacer una comparación estadística de la cantidad de aislados multirresistentes por subsitio de los manglares Mogote y Lagunitas que no se encuentra una diferencia significativa entre los resultados obtenidos, por lo que se agrupan dentro del mismo grupo B. Esto significa que la cantidad de aislados es considerada estadísticamente igual para los 4 subsitios de cada manglar.

El Manglar de Bahía Magdalena CFE se caracteriza por un tipo de contaminación industrial, la cual hace evidente el daño provocado debido a sus descargas y a la vegetación muerta alrededor de dichos canales de descargas. Debido a estos desechos se esperaba encontrar un alto número de bacterias multirresistentes a antibióticos en los sitios de muestreos cercanos a dicho canal de desechos.

El subsitio CFE4 es el que presenta una mayor perturbación dentro del manglar CFE debido a que hace alrededor de 20 años se vertieron desechos con alto contenido de carbono y elementos traza como azufre, por lo cual es perceptible un característico olor a azufre en la zona. A pesar de este grado de perturbación,

parece no relacionarse con la presencia de bacterias multirresistentes a antibióticos. El subsitio CFE1 es el sitio más alejado de la planta de la CFE y de su canal de desechos, por lo que la perturbación de este sitio es mínima.

Sin embargo, como se puede observar en la Tabla 6, no se observa una diferencia significativa entre cada uno de los subsitios, por lo que no se puede hacer una asociación entre el nivel de contaminación encontrada en este manglar, con el número de bacterias multirresistentes obtenidas.

Tabla 6. Aislados por subsitio Manglar San Carlos Perturbado - CFE. Número y promedio de aislados por subsitio de muestreo. Las medias que no comparten letra igual, son significativamente diferentes.

<i>Subsitio</i>	<i>Promedio de aislados por subsitio</i>	<i>Número Total de Aislados</i>
CFE1	0.889 / ± 0.782 ^A	8
CFE2	1.222 / ± 1 ^A	12
CFE3	1.778 / ± 1.563 ^A	16
CFE4	1.222 / ± 0.782 ^A	10
CFE5	1.444 / ± 1.014 ^A	13

El Manglar de San Carlos Subsitio Conservado es un manglar que no presenta alguna perturbación evidente. Se pueden apreciar en el sitio desechos de pesca y de bivalvos, debido a la venta para consumo humano en zonas cercanas, es por ello que el sitio es comúnmente llamado por la población local como “Concheros”.

Como se observa en la Tabla 7, los sitios SCC3, 04, 05 y 01, presentan un número bajo de bacterias multirresistentes a antibióticos si se compara con el sitio SCC2. Sin embargo, no se presenta una diferencia significativa entre los aislados encontrados en cada uno de los subsitios, lo cual se puede asociar a las condiciones aparentemente estables del manglar y a la abundancia en su vegetación. Como



menciona Zhao et al. (2019), el manglar está teniendo la capacidad de remover genes de resistencia a antibióticos (GRAs), y es por ello que en los subsitios de muestreo no se encuentra diferencia entre la cantidad de aislados encontrados.

Lo obtenido en el análisis estadístico de la Tabla 2, muestra que no hay una diferencia significativa entre los aislados encontrados en cada uno de los subsitios de ambos manglares (CFE y SCC).

Tabla 7. Aislados por subsitio Manglar San Carlos Conservado - SCC. Número y promedio de aislados por subsitio de muestreo. Las medias que no comparten letra igual, son significativamente diferentes.

Subsitio	Promedio de aislados por subsitio	Número Total de Aislados
SCC1	1 / ± 1.118 ^A	9
SCC2	2.444 / ± 1.810 ^A	22
SCC3	0.778 / ± 0.972 ^A	7
SCC4	1 / ± 0.707 ^A	9
SCC5	0.778 / ± 0.666 ^A	7

En la determinación de bacterias multirresistentes en el manglar Carretera Aeropuerto-La Paz, se tomaron 3 subsitios de muestreo como sitios Conservados (CB04, 05 y 06) y 3 como Perturbados (CB01, 02 y 03), estos últimos debido a la cercanía con el canal del efluente de la planta tratadora de aguas residuales de La Paz.

Tabla 8. Aislados por subsitio Manglar Cola de Ballena – Carretera Aeropuerto La Paz.
Número y promedio de aislados por subsitio de muestreo. Las medias que no comparten letra igual, son significativamente diferentes.

<i>Subsitio</i>	<i>Promedio de aislados por subsitio</i>	<i>Número Total de Aislados</i>
CDB01	3.555 / ± 2.697 ^A	32
CDB02	2.333 / ± 1.871 ^B	21
CDB03	4.444 / ± 2.007 ^A	40
CDB04	2.111 / ± 1.536 ^B	19
CDB05	1.778 / ± 1.852 ^B	16
CDB06	3.556 / ± 1.666 ^A	32
CDB07	2.222 / ± 1.641 ^B	20
CDB08	1.222 / ± 1.995 ^B	11

En los resultados se muestra que los subsitios considerados como perturbados si presentaron un mayor número de bacterias multirresistentes, como se esperaba, siendo el subsitio *CB03* el que presentó un mayor número, con un total de 40 (Bacterias Multirresistentes a Antibióticos) BMRA. A pesar de que no es el sitio más cercano al efluente, es un sitio que se encuentra próximo, por lo que al no estar de manera directa con el efluente, no hay corrientes del mismo cercanas y se evidencia una relación más estable entre los contaminantes vertidos y la función de almacén de genes de resistencia del manglar como se ha mencionado anteriormente.

Dentro de los 3 subsitios conservados se puede observar una diferencia estadísticamente significativa en el subsitio *CB06*, el cual es el que se encuentra más cercano al fraccionamiento, por lo que se puede considerar también una variable los desechos directos de la población de la zona y el hecho de que es el subsitio conservado con mayor vegetación de mangle. Los subsitios *CB04* y *CB05* presentan un número relativamente bajo al compararlo con los sitios perturbados.



El subsitio CB07 es un subsitio que cuenta con vegetación secundaria, es un sitio cuyo suelo es diferente y es una zona de comercio rural.

En el análisis estadístico que se muestra en la Tabla 8, se puede observar una diferencia entre los subsitios CDB01, CDB03 y CDB06 con el resto, lo cual indica que estadísticamente existe una diferencia en la cantidad de aislados en estos sitios. Los subsitios CDB01 y CDB03, son considerados como perturbados, debido a la cercanía que tienen con los efluentes de contaminantes. Mientras que el subsitio CDB06, es un sitio que se encuentra alejado de la zona de las descargas de aguas residuales, pero colinda con el área habitada, por lo que los desechos humanos pueden ser la causa del alto número de aislados multirresistentes.

8.4 Resistencia a antibióticos mostrada por los aislados de sedimentos.

Los resultados de las pruebas de resistencia en cada uno de los aislados de las diferentes muestras de sedimento, permitieron hacer una comparación del efecto de estos contaminantes. Se puede entonces observar el efecto que tienen los antibióticos seleccionados para las pruebas en este grupo de bacterias ambientales y observar la eficacia de cada uno de ellos a concentraciones que usualmente son asignadas para su tratamiento con base a los criterios de la CLSI.

Tabla 9. Multirresistencia por antibiótico. Resultados de resistencia para cada uno de los 7 antibióticos probados en los aislados. Número de cepas resistentes obtenidas en base al total de cepas por grupos de salinidad como condición de aislamiento primario.

	<i>Ampicilina</i> 10 µg/L	<i>Kanamicina</i> 30 µg/L	<i>Cloranfenicol</i> 30 µg/L	<i>Cefotaxima</i> 30 µg/L	<i>Ciprofloxacina</i> 5 µg/L	<i>Vancomicina</i> 30 µg/L	<i>Tetraciclina</i> 30 µg/L
Cepas 0% NaCl	56	53	89	117	111	64	43
Cepas 1.5% NaCl	66	104	78	119	111	62	22
Cepas 3% NaCl	49	144	76	135	127	94	41
Total de cepas resistentes por antibiótico	171	301	243	371	349	220	106

En la *Tabla 9*, la comparación de la resistencia presentada para cada uno de los antibióticos muestra una alta resistencia para la cefotaxima, seguida de la ciprofloxacina y kanamicina, con un total de 371, 349 y 301 aislamientos resistentes, respectivamente.

8.5 Análisis fenotípico de los patrones de multirresistencia

Los perfiles fenotípicos de resistencia a antibióticos obtenidos, permiten observar una frecuencia alta en un grupo de 6 perfiles con frecuencias altas que los hacen contrastantes con el resto. Además de que se presenta una diferencia al comparar los resultados de cada uno de los manglares.

Como es el caso de los manglares Mogote y Lagunitas, ya que los patrones de resistencia con más frecuencia en total, no la presentan o no son tan contrastantes en estos dos sitios de muestreo, como en el resto de los manglares (*Tabla 10*).

Tabla 10. Perfiles fenotípicos de resistencia. Patrones de resistencia encontrados para las 408 bacterias multirresistentes aisladas en base a los 7 antibióticos utilizados. Se presentan aquellos patrones de los manglares Mogote Conservado (MM), Lagunitas Perturbado (ML), San Carlos Perturbado (CFE), San Carlos Conservado (SCC) y Carretera Aeropuerto-La Paz (CdB).

No. De antibióticos	Perfil	MANGLAR					Total
		CdB	SCC	CFE	MM	ML	
7	<i>Amp Kan Clor Cefo Cipro Vanc Tetra</i>	2	1	0	2	0	5
	<i>Amp Kan Clor Cefo Cipro Vanc</i>	3	1	1	4	2	11
	<i>Amp Kan Clor Cefo Cipro Tetra</i>	2	3	0	1	0	6
	<i>Amp Kan Clor Cefo Vanc Tetra</i>	1	0	0	2	1	4
6	<i>Amp Kan Clor Cipro Vanc Tetra</i>	0	1	0	0	0	1
	<i>Amp Kan Cefo Cipro Vanc Tetra</i>	2	1	1	1	0	5
	<i>Amp Clor Cefo Cipro Vanc Tetra</i>	0	0	1	0	0	1
	<i>Kan Clor Cefo Cipro Vanc Tetra</i>	4	0	0	2	2	8
5	<i>Amp Kan Clor Cefo Cipro</i>	5	3	6	1	0	15
	<i>Amp Kan Clor Cefo Vanc</i>	0	0	0	4	2	6
	<i>Amp Kan Clor Cipro Vanc</i>	0	1	0	1	0	2
	<i>Amp Kan Cefo Cipro Vanc</i>	5	1	1	1	1	9
	<i>Amp Kan Cefo Cipro Tetra</i>	1	1	1	0	0	3



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICA

	<i>Amp Kan Cefo Vanc Tetra</i>	0	1	0	0	0	1
	<i>Amp Clor Cefo Cipro Vanc</i>	4	1	2	0	1	8
	<i>Amp Clor Cefo Cipro Tetra</i>	2	0	0	0	0	2
	<i>Amp Clor Cefo Vanc Tetra</i>	1	0	0	0	0	1
	<i>Amp Cefo Cipro Vanc Tetra</i>	2	0	0	0	0	2
	<i>Kan Clor Cefo Cipro Vanc</i>	5	0	0	5	0	10
	<i>Kan Clor Cefo Cipro Tetra</i>	3	1	0	0	2	6
	<i>Kan Clor Cefo Vanc Tetra</i>	0	0	0	0	1	1
	<i>Kan Clor Cipro Vanc Tetra</i>	0	1	0	0	0	1
	<i>Kan Cefo Cipro Vanc Tetra</i>	8	0	0	0	0	8
	<i>Clor Cefo Cipro Vanc Tetra</i>	4	0	1	0	0	5
	<i>Amp Kan Clor Cefo</i>	0	0	0	5	0	5
	<i>Amp Kan Clor Vanc</i>	0	0	0	0	1	1
	<i>Amp Kan Clor Tetra</i>	0	0	1	1	0	2
	<i>Amp Kan Cefo Cipro</i>	8	3	2	0	0	13
	<i>Amp Kan Cefo Vanc</i>	1	0	0	0	1	2
	<i>Amp Kan Cipro Vanc</i>	1	1	1	1	0	4
	<i>Amp Kan Vanc Tetra</i>	0	0	2	0	0	2
	<i>Amp Clor Cefo Cipro</i>	7	2	2	1	0	12
	<i>Amp Cefo Cipro Vanc</i>	6	0	3	0	0	9
	<i>Amp Cefo Cipro Tetra</i>	2	1	0	0	0	3
	<i>Amp Cefo Vanc Tetra</i>	0	1	0	0	0	1
4	<i>Kan Clor Cefo Cipro</i>	10	3	9	2	3	27
	<i>Kan Clor Cefo Vanc</i>	2	0	0	3	3	8
	<i>Kan Clor Cefo Tetra</i>	1	0	0	0	0	1
	<i>Kan Clor Cipro Vanc</i>	0	0	0	4	2	6
	<i>Kan Cefo Cipro Vanc</i>	9	1	1	2	0	13
	<i>Kan Cefo Cipro Tetra</i>	4	0	0	0	0	4
	<i>Kan Cipro Vanc Tetra</i>	0	1	0	1	0	2
	<i>Clor Cefo Cipro Vanc</i>	2	0	2	1	2	7
	<i>Clor Cefo Cipro Tetra</i>	2	0	0	0	0	2
	<i>Clor Cefo Vanc Tetra</i>	0	0	0	0	0	0
	<i>Clor Cipro Vanc Tetra</i>	3	0	0	0	0	3
	<i>Cefo Cipro Vanc Tetra</i>	2	0	1	0	0	3
	<i>Amp Kan Clor</i>	0	0	0	2	0	2
	<i>Amp Kan Cefo</i>	0	0	0	1	0	1
	<i>Amp Kan Cipro</i>	1	1	0	0	0	2
	<i>Amp Kan Vanc</i>	1	1	0	0	0	2
	<i>Amp Kan Tetra</i>	0	0	0	0	1	1
3	<i>Amp Clor Cefo</i>	1	0	0	2	0	3
	<i>Amp Clor Vanc</i>	0	1	0	0	0	1
	<i>Amp Cefo Cipro</i>	4	3	3	0	1	11
	<i>Amp Cefo Vanc</i>	0	0	1	0	0	1
	<i>Amp Vanc Tetra</i>	0	2	0	0	0	2
	<i>Kan Clor Cefo</i>	0	2	0	10	1	13



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICA

<i>Kan Clor Cipro</i>	3	1	0	1	0	5
<i>Kan Clor Vanc</i>	1	1	0	0	2	4
<i>Kan Clor Tetra</i>	1	1	1	0	0	3
<i>Kan Cefo Cipro</i>	25	6	7	2	4	44
<i>Kan Cefo Vanc</i>	0	2	0	1	0	3
<i>Kan Cipro Vanc</i>	1	1	0	2	1	5
<i>Kan Cipro Tetra</i>	1	0	0	0	1	2
<i>Kan Vanc Tetra</i>	1	0	0	0	0	1
<i>Clor Cefo Cipro</i>	12	1	4	0	1	18
<i>Clor Cipro Vanc</i>	1	0	0	0	1	2
<i>Clor Cipro Tetra</i>	1	0	0	0	0	1
<i>Cefo Cipro Vanc</i>	18	1	5	0	0	24
<i>Cefo Cipro Tetra</i>	4	0	0	0	0	4
<i>Cefo Vanc Tetra</i>	1	0	0	0	1	2
TOTAL CEPAS MR	191	54	59	66	38	408

Los resultados obtenidos de patrones de resistencia pueden ser de utilidad para relacionar el tipo de mecanismos de resistencia que están presentando las bacterias de los diferentes subsitios de muestreo y además brindar información acerca de las perturbaciones ocasionadas por los efluentes, ya que una de las principales causas de resistencia a antibióticos es la presencia de residuos de los mismos dentro de las descargas de contaminantes (Nogales et al., 2011).

Como se puede ver en la Tabla 10, los 5 perfiles fenotípicos de resistencia a antibióticos que presentaron una mayor frecuencia dentro de los microorganismos aislados fueron:

1. Kanamicina, cefotaxima y ciprofloxacina (44 BMRA)
2. Kanamicina, cloranfenicol, cefotaxima y ciprofloxacina (27 BMRA)
3. Cefotaxima, ciprofloxacina y vancomicina (24 BMRA)
4. Cloranfenicol, cefotaxima y ciprofloxacina (18 BMRA)
5. Ampicilina, kanamicina, cloranfenicol, cefotaxima y ciprofloxacina (15 BMRA).



9 DISCUSIÓN

9.1 Selección de cepas multirresistentes

El Manglar carretera Aeropuerto-La Paz mostró un alto número de bacterias multirresistentes a antibióticos. Esto era esperado, debido al aumento de los nutrientes, como alto contenido de carbono proveniente de los contaminantes, lo que provoca el aumento en el número y diversidad de microorganismos (Nogales et al., 2011).

Además, los microorganismos resistentes a antibióticos presentes en las descargas de aguas residuales tienen la capacidad de transferir genes de resistencia a los microorganismos nativos del manglar (Coutinho et al., 2014).

Los Manglares correspondientes a Bahía Magdalena (SCC y CFE) y Ensenada-La Paz (MM y ML), presentaron en comparación con Manglar Carretera Aeropuerto-La Paz, un número menor de aislados multirresistentes. Lo anterior puede estar relacionado con el tipo de perturbaciones que presentan los manglares ML, que es una perturbación natural y CFE es una perturbación por la planta de la Comisión Federal de Electricidad. Los manglares MM y SCC son considerados como sitios conservados, por lo que es de esperarse ese número similar entre aquellos sitios considerados como conservados y perturbados.

La perturbación que presenta el manglar de San Carlos CFE, es causada por la quema de combustibles de la planta de la Comisión Federal de Electricidad, por lo que en el sitio se observa vegetación dañada cerca del canal de desemboque de desechos. Sin embargo, este tipo de daño parece no estar incrementando de manera considerable la cantidad de bacterias multirresistentes presentes en el sitio. Lo anterior se puede relacionar con el tipo de desechos, que son de clase industrial, y no están relacionados con el uso de antibióticos.



En relación con los manglares conservados (MM y SCC) el número de aislados multirresistentes presentó una similitud con los sitios perturbados, por lo que esto evidencia la capacidad de los manglares como reservorios naturales de genes de resistencia. Además, al ser un entorno acuático libre, la diseminación de genes de resistencia a antibióticos se desarrolla de una manera más sencilla (Bhattacharyya et al., 2019). Sin embargo, la presencia de genes de resistencia también se ha llegado a asociar con mecanismos evolutivos, como se evidenció en un análisis de metagenoma donde se encontraron genes de β -lactamasa en suelos de Alaska libres de antibióticos (Aminov, 2009).

En los manglares que presentan afectaciones por actividades antropogénicas como descargas de aguas residuales, aumenta la cantidad de materia orgánica que se deposita en los sedimentos y se conserva en las capas superiores. Esto puede contribuir al desarrollo de una mayor cantidad de microorganismos. Además, la disminución de microorganismos a mayores profundidades se relaciona con la función de filtro natural del sedimento, que atrapa partículas como materia orgánica en las capas superiores (Karbadehi et al., 2017). Así mismo, al aumentar la profundidad, la disponibilidad de oxígeno disminuye, por lo que se presentarán en su mayoría microorganismos microaerófilos y hasta anaerobios estrictos. Sin embargo, la evaluación de microorganismos anaerobios estrictos está fuera del alcance del presente proyecto.

9.2 Comparación de cepas multirresistentes en subsitios conservados y perturbados

Los manglares tienen la capacidad natural de ser potenciales reservorios de genes de resistencia de manera natural, así como la transmisión de los mismos. Bhattacharyya y colaboradores (2019) mencionan que los ecosistemas acuáticos como los manglares son reservorios potenciales de bacterias resistentes a antibióticos y genes de resistencia a antibióticos, mismos que son fácilmente



transmisibles entre las bacterias presentes en el ecosistema, incluso aquellas que son nativas del lugar.

Existen ejemplos de ecosistemas que a pesar de no tener alguna perturbación o contaminación, se han encontrado altos porcentajes de bacterias multirresistentes y genes de resistencia a antibióticos. Por ejemplo, el fenotipo de más de un 60% de Enterobacterias aisladas de ecosistemas acuáticos prístinos presentaron multirresistencia a antibióticos (Aminov et al., 2009). Por lo que es justificable el hecho de que no exista una diferencia evidente en la cantidad de aislados multirresistentes entre los sitios perturbados y conservados. Además, es importante mencionar que los tipos de perturbación, como el caso del manglar de Mogote Lagunitas, son perturbaciones naturales. Por lo que el hecho de que no sea una contaminación con desechos humanos influye en los resultados.

Si se compara el manglar Carretera Aeropuerto-La Paz, con los manglares perturbados de Mogote y San Carlos, es evidente una diferencia en la cantidad de bacterias multirresistentes encontradas. Estos resultados concuerdan con varios trabajos en los que se evalúa la contaminación provocada con aguas residuales tratadas. El uso de aguas residuales para irrigar el suelo aumenta la probabilidad de encontrar microorganismos resistentes a antibióticos, así como la generación de nuevos microorganismos resistentes (Palacios et al., 2017). Lo anterior va relacionado con la presencia de bajos niveles de antibióticos en los efluentes, además de que el tratamiento de las aguas residuales no elimina la resistencia a antibióticos en las bacterias y permanecerán en el efluente, pudiendo reactivarse o pasar por un proceso de presión selectiva.

9.3 Resistencia a antibióticos mostrada por los aislados de sedimentos.

Los antibióticos con mayor resistencia fueron cefotaxima, ciprofloxacina y kanamicina. Los informes de la OMS indican que en 18 países de América es factible adquirir antibióticos o medicamentos sin necesidad de receta médica, región



en la que se evidenció la resistencia de *E. coli* a las cefalosporinas de tercera generación y a las fluoroquinolonas (Alejos, 2017).

La tetraciclina, al ser un antibiótico de amplio espectro, es eficaz contra bacterias Gram negativas y Gram positivas, así como contra bacterias aerobias y anaerobias. También son eficaces contra las bacterias resistentes a antibióticos β -lactámicos (Patiño et al., 2008), lo que explica la eficacia de la tetraciclina mostrada en este estudio, presentando sólo 51 aislamientos resistentes.

En trabajos previos se han hecho evaluaciones de los genes de resistencia a antibióticos (GRAs) en suelos prístinos, que codifican bombas de eflujo de antibióticos (bombas de eyección activa). Estos genes son de interés ya que confieren resistencia a antibióticos de importancia clínica como a aminoglucósidos, cloranfenicol y β -lactámicos (Cycon et al., 2019). Lo anterior puede explicar la alta resistencia presentada a kanamicina en el presente estudio. Además, estas bombas de eflujo presentan 6 familias diferentes, las cuales le brindan a las bacterias la capacidad de resistencia específica a ciertos antibióticos. Tal es el caso de la superfamilia facilitadora principal (MFS), las cuales brindan resistencia hacia las fluoroquinolonas; o aquellas que proporcionan la capacidad de resistencia a un amplio rango de antibióticos como la superfamilia de división celular de Nodulación-Resistente (RND), que genera resistencia a aminoglucósidos, cefotaxime y cloranfenicol, entre otros (Du, 2018).

9.4 Análisis fenotípico de los patrones multirresistentes

Es interesante observar que en cada uno de los 5 perfiles de resistencia que presentan una mayor frecuencia, aparecen los antibióticos cefotaxima y ciprofloxacina. En el caso de cefotaxima, es un antibiótico del grupo de las cefalosporinas de tercera generación. Su resistencia se asocia a β -lactamasas de Espectro Extendido (BLEE), las cuales son enzimas que además conferir resistencia a los antibióticos β -lactámicos, han desarrollado resistencia a antibióticos como las cefalosporinas de tercera generación. Las BLEE se asocian a bacterias



enteropatógenas y uropatógenas, por lo que representan un gran problema de salud que ha ido en crecimiento (Carbajal, et. al., 2020). Debido a las características del antibiótico y del posible mecanismo de resistencia, se puede asociar de manera directa a contaminantes de origen humano, sobre todo, aguas residuales.

Por otro lado, la Cirpofloxacina es un antibiótico del grupo de las fluoroquinolonas, cuyo mecanismo de acción afecta a la Topoisomera II, impidiendo la replicación y transcripción en la bacteria. En el estudio de Ohore y colaboradores (2021), se reporta que la presencia de ciprofloxacina en medios acuáticos provoca un aumento en la presencia de bacterias resistentes de grupos importantes como las proteobacterias, además provoca una mayor abundancia de ARGs como los que confieren mecanismos como bombas de eflujo, resistencia a la tetraciclina, rifampicina y β -lactámicos. Por lo que la alta frecuencia de ciprofloxacina en los perfiles de resistencia puede indicar el desarrollo de los mecanismos anteriormente mencionados debido a la presencia de residuos del antibiótico en los contaminantes presentes en los manglares evaluados y la transferencia de dicha resistencia.

También se puede observar en los resultados que los antibióticos cloranfenicol y kanamicina aparecen con una alta frecuencia en los perfiles de resistencia. Estos antibióticos también se han relacionado con mecanismos como las bombas de eflujo en estudios realizados en suelos prístinos (Cycon, et. al., 2019).

Los perfiles de resistencia fenotípicos evidencian patrones de resistencia que se relacionan con el uso de estos antibióticos en el humano, por lo que las descargas de los desechos humanos, como aguas residuales, en los ecosistemas de manglar evidencian el uso de dichos antibióticos por la población y pueden ser una consecuencia de la administración incontrolada y no supervisada (Alejos, 2017).



10 CONCLUSIONES

En la determinación de bacterias multirresistentes en los manglares de Baja California Sur, se aislaron un total de 408 bacterias multirresistentes a antibióticos, lo cual evidencia la capacidad que tienen los manglares como almacén de genes de resistencia a antibióticos y la transferencia de los genes en ambientes acuáticos.

En la comparación del número de bacterias multirresistentes a antibióticos entre un sitio conservado y uno perturbado, no se obtuvieron diferencias que indiquen el grado de perturbación del manglar. Sin embargo, el tipo de perturbaciones de los manglares Mogote y San Carlos puede no ser evidentes a través de la determinación de bacterias multirresistentes ya que se trata de perturbaciones naturales y con impacto en la cantidad de algunos elementos como Carbono y Azufre.

En el manglar Carretera Aeropuerto-La Paz, se obtuvieron número altos de bacterias multirresistentes a antibióticos, lo cual se relaciona con el tipo de contaminación del lugar, y como esas descargas de aguas residuales están afectando a la comunidad microbiana del manglar, volviéndola un riesgo para la salud de la población que se encuentra cercana al manglar.

Los perfiles de resistencia a antibióticos presentaron frecuencias altas para principalmente dos antibióticos: ciprofloxacina y cefotaxima. Esto se relaciona directamente con la perturbación de los manglares por actividades humanas y la probable presencia de residuos de antibióticos en los desechos que se vierten en el manglar.

En este trabajo se evaluó una parte importante dentro de las características bióticas de los manglares de Baja California Sur, y permitió hacer una correlación entre las bacterias multirresistentes a antibióticos y las perturbaciones de los sitios evaluados. Por lo que es importante continuar con la evaluación de dichos ecosistemas, para conocer nuevas características que puedan ayudar a entender el origen y grado de afectación de los sitios para su posterior restauración.



11 REFERENCIAS

- Adame, M. F., Najera, E., Lovelock, C. E., & Brown, C. J. (2018). Avoided emissions and conservation of scrub mangroves: potential for a Blue Carbon project in the Gulf of California, Mexico. *Biology letters*, 14(12), p. 20180400.
- Alejos Tapia, I. G. (2017). Caracterización de la susceptibilidad a antibióticos betalactámicos de espectro extendido, ciprofloxacina y cotrimoxazol de cepas de *Escherichia coli* aisladas de zonas de amortiguamiento cercanas a crianza de *Argopecten purpuratus* (conchas de abanico) en seis puntos de la Bahía de Sechura, Piura. Obtención de grado. Medicina Veterinaria. Universidad paruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.
- Alós, J. I. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 33(10), 692-699.
- Aminov, R. I. (2009). The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Environmental microbiology*, 11(12), 2970-2988.
- Baptista, P. V., McCusker, M. P., Carvalho, A., Ferreira, D. A., Mohan, N. M., Martins, M., & Fernandes, A. R. (2018). Nano-strategies to fight multidrug resistant bacteria—"A Battle of the Titans". *Frontiers in microbiology*, 9, 1441.
- Bhattacharyya, A., Haldar, A., Bhattacharyya, M., & Ghosh, A. (2019). Anthropogenic influence shapes the distribution of antibiotic resistant bacteria (ARB) in the sediment of Sundarban estuary in India. *Science of the Total Environment*, 647, 1626-1639.
- Brenner, L., Engelbauer, M., & Job, H. (2018). Mitigating tourism-driven impacts on mangroves in Cancún and the Riviera Maya, Mexico: an evaluation of conservation policy strategies and environmental planning instruments. *Journal of Coastal Conservation*, 22(4), 755-767.
- Cabral, J. R., de Freitas, P. S., Rezende, R., Muniz, A. S., & Bertonha, A. (2011). Impacto da água residuária de suinocultura no solo e na produção de capim-elefante. *Revista Brasileira de engenharia agrícola e Ambiental*, 15, 823-831.
- Calderón Rojas, G., & Aguilar Ulate, L. (2017). Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. *Revista Médica de Costa Rica Y Centroamérica*, 73(621), 757-763.



- Calva-Soto, K., & Pavón, N. P. (2018). La restauración ecológica en México: una disciplina emergente en un país deteriorado. *Madera y bosques*, 24 (1).
- Cantón, R., García, J. E., Gómez, L., Martínez, L., Rodríguez, C., Vila, J., & García, J. A. (2000). Procedimientos en Microbiología Clínica. Métodos Básicos Para el Estudio de la Sensibilidad a los Antimicrobianos en Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Madrid Editorial Picazo J J*.
- Christou, A., Agüera, A., Bayona, J. M., Cytryn, E., Fotopoulos, V., Lambropoulou, D., & Fatta-Kassinos, D. (2017). The potential implications of reclaimed wastewater reuse for irrigation on the agricultural environment: the knowns and unknowns of the fate of antibiotics and antibiotic resistant bacteria and resistance genes—a review. *Water research*, 123, 448-467.
- Christou, A., Eliadou, E., Michael, C., Hapeshi, E., & Fatta-Kassinos, D. (2014). Assessment of long-term wastewater irrigation impacts on the soil geochemical properties and the bioaccumulation of heavy metals to the agricultural products. *Environmental monitoring and assessment*, 186(8), 4857-4870.
- Coutinho, F. H., Silveira, C. B., Pinto, L. H., Salloto, G. R., Cardoso, A. M., Martins, O. B., & Clementino, M. M. (2014). Antibiotic resistance is widespread in urban aquatic environments of Rio de Janeiro, Brazil. *Microbial ecology*, 68(3), 441-452.
- Cycon, M., Mroziak, A., & Piotrowska-Seget, Z. (2019). Antibiotics in the soil environment - degradation and their impact on microbial activity and diversity. *Frontiers in microbiology*, 10, 338.
- De León Rosales, S. P., Hernández, R. A., & Vidal, Y. L. (2015). La resistencia a los antibióticos: Un grave problema global. *Gaceta médica de México*, 151(5), 681-689.
- Finegan, B., Céspedes Agüero, M., Sesnie, S. E., Herrera, F., Induni, G., Sáenz, J., ... & Wong, G. (2008). El monitoreo ecológico como herramienta de manejo para la conservación: Bases conceptuales y estructura del Programa de Monitoreo Ecológico Terrestre en Áreas Protegidas y Corredores Biológicos de Costa Rica. *Recursos Naturales y Ambiente Número 54*, p. 66-73.



- Gao, P., Mao, D., Luo, Y., Wang, L., Xu, B., & Xu, L. (2012). Occurrence of sulfonamide and tetracycline-resistant bacteria and resistance genes in aquaculture environment. *Water research*, *46*(7), 2355-2364.
- NOM-059-SEMARNAT-2010. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. Diciembre 2010.
- Imchen, M., Vennapu, R. K., Ghosh, P., & Kumavath, R. (2019). Insights into Antagonistic Interactions of Multidrug Resistant Bacteria in Mangrove Sediments from the South Indian State of Kerala. *Microorganisms*, *7*(12), 678.
- Jalal, K. C. A., UT, N. F., Mardiana, M. A., Shahbudin, S., & Omar, M. N. (2010). Antibiotic resistance microbes in tropical mangrove sediments in east coast peninsular, Malaysia. *African Journal of Microbiology Research*, *4*(8), 640-645.
- Karbasdehi, V. N., Dobaradaran, S., Nabipour, I., Ostovar, A., Arfaeina, H., Vazirzadeh, A., & Khalifei, F. (2017). Indicator bacteria community in seawater and coastal sediment: the Persian Gulf as a case. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, *15*(1), 6.
- Lin, J., Nishino, K., Roberts, M. C., Tolmasky, M., Aminov, R. I., & Zhang, L. (2015). Mechanisms of antibiotic resistance. *Frontiers in microbiology*, *6*, 34.
- López-López, S. G. (2013). *Caracterización física y evaluación del impacto antropogénico en los principales humedales de manglar en la Bahía de La Paz, Baja California Sur*. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz, Baja California Sur, México.
- López-Portillo, J. L., & Ezcurra, E. (2002). Los manglares de México: una revisión. *Madera y bosques*, Ed. 8, 27-51.
- Lutgring, J. D., Machado, M. J., Benahmed, F. H., Conville, P., Shawar, R. M., Patel, J., & Brown, A. C. (2018). FDA-CDC Antimicrobial Resistance Isolate Bank: a publicly available resource to support research, development, and regulatory requirements. *Journal of clinical microbiology*, *56*(2), e01415-17.



- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., ... & Paterson, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection*, 18(3), 268-281.
- Maurya, P., & Kumari, R. (2021). Spatiotemporal variation of the nutrients and heavy metals in mangroves using multivariate statistical analysis, Gulf of Kachchh (India). *Environmental Research*, 195, 110803.
- Mendoza, L. C. H., Daniel, A. C., & Iuit, J. O. V. (2019). Estructura de la comunidad íctica de un ecosistema de manglar en proceso de restauración en la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an, Quintana Roo, México. *1er Congreso Manglares de América*, Ecuador 2019. 66-78.
- Ng, C., Chen, H., Goh, S. G., Haller, L., Wu, Z., Charles, F. R., ... & Gin, K. (2018). Microbial water quality and the detection of multidrug resistant E. coli and antibiotic resistance genes in aquaculture sites of Singapore. *Marine pollution bulletin*, 135, 475-480.
- Nogales, B., Lanfranconi, M. P., Piña-Villalonga, J. M., & Bosch, R. (2011). Anthropogenic perturbations in marine microbial communities. *FEMS Microbiology reviews*, 35(2), 275-298.
- Ohore, O. E., Zhang, S., Guo, S., Addo, F. G., Manirakiza, B., & Zhang, W. (2021). Ciprofloxacin increased abundance of antibiotic resistance genes and shaped microbial community in epiphytic biofilm on *Vallisneria spiralis* in mesocosmic wetland. *Bioresource Technology*, 323, 124574.
- Palacios, O. A., Contreras, C. A., Muñoz-Castellanos, L. N., González-Rangel, M. O., Rubio-Arias, H., Palacios-Espinosa, A., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2017). Monitoring of indicator and multidrug resistant bacteria in agricultural soils under different irrigation patterns. *Agricultural water management*, 184, 19-27.
- Patiño, N. M., & Sepúlveda, A. E. C. (2008). Tetraciclinas. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 51(1), 29-32.
- Portillo, J. L., & Ezcurra, E. (2002). Los manglares de México: una revisión. *Madera y bosques*, 8(Es1), 27-51.



- Rodriguez-Narvaez, O. M., Peralta-Hernandez, J. M., Goonetilleke, A., & Bandala, E. R. (2017). Treatment technologies for emerging contaminants in water: A review. *Chemical Engineering Journal*, 323, 361-380.
- Rodríguez-Zúñiga, M. T., Troche-Souza, C., Vázquez-Lule, A. D., Márquez-Mendoza, J. D., Vázquez-Balderas, B., Valderrama-Landeros, L., ... & Galindo-Leal, C. (2018). Manglares de México/Extensión, distribución y monitoreo. *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la biodiversidad. México DF*, 128.
- Salgado, R. A. M., Bermejo, N. M., Playa, C., de Santa Rita, P., La Paz, B., de La Paz, H. M. E., ... & Vértice, X. Y. (2008). Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar (FIR). The Ramsar Sites Information Service (RSIS).
- Troche-Souza, C., Rodríguez-Zúñiga, M.T., Velázquez-Salazar, S., Valderrama-Landeros, L., Villeda-Chávez, E., Alcántara-Maya, A., Vázquez-Balderas, B., Cruz-López, M.I. y Ressler, R. 2016. Manglares de México: extensión, distribución y monitoreo (1970/1980—2015). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F.
- Zhao, H., Yan, B., Mo, X., Li, P., Li, B., Li, Q., ... & Jiang, C. (2019). Prevalence and proliferation of antibiotic resistance genes in the subtropical mangrove wetland ecosystem of South China Sea. *MicrobiologyOpen*, 8(11), e871.



ANEXOS

ANEXO I.

Tabla para la determinación de la relación entre Salinidad, Profundidad, Manglar y Subsitio con el número de aislados. Análisis de varianza para las diferentes fuentes de variación que puedan influir en el número de aislados obtenidos.

Fuente de Variación	GL	SC Ajustada	MC Ajustada	F	P
<i>Manglar</i>	4	98.298	24.5744	10.72	0.000
<i>Profundidad</i>	2	10.265	5.1325	2.24	0.109
<i>Salinidad</i>	2	0.060	0.0299	0.01	0.987
<i>Subsitio (Manglar)</i>	21	105.275	5.0131	2.19	0.003
Error	204	467.675	2.2925		
Total	233	681.573			

ANEXO II. Perfiles de resistencia fenotipicos para cada una de las cepas multirresistentes. El valor 1 representa resistencia, 0 representa susceptibilidad.

II-A. Tabla de perfiles de resistencia de Manglar Mogote

Cluster	Resistencias	Tetraciclina	Vancomicina	Ciprofloxacina	Cefotaxima	Cloranfenicol	Kanamicina	Ampicilina	Nomenclatura	Identificacion	NaCl (Criterio de aislamiento)
26	6	1	1	1	1	1	1	0	MM1 1mm 0-15 10 ³ 2	2	0
4	5	0	1	1	1	1	1	0	MM1 1mm 0-15 10 ³ 3	3	0
3	4	0	1	1	0	1	1	0	MM1 1mm 0-15 10 ³ 4	4	0
42	3	0	0	1	1	0	1	0	MM1 1mm 0-15 10 ⁴ 1	5	0
29	3	0	0	0	0	1	1	1	MM1 0-15 10 ³ 1	9	0
43	4	0	1	1	1	1	0	0	MM1 15-30 10 ⁴ 1	13	0
44	3	0	0	0	1	1	0	1	MM1 30-50 10 ⁴ 1	15	0
45	4	0	0	0	1	1	1	1	MM1 50-70 10 ³ 1	16	0
6	3	0	0	0	1	1	1	0	MM1 50-70 10 ⁴ 2	18	0
46	4	1	0	0	0	1	1	1	MM2 2 15-30 10 ³ 1	29	0
47	3	0	0	0	1	1	0	1	MM3 0--15 10 ⁴ 3	37	0
48	4	0	1	0	1	1	1	0	MM3 15-30 10 ³ 1	38	0
18	3	0	0	0	1	1	1	0	MM3 15-30 10 ⁴ 1	40	0
49	5	0	1	0	1	1	1	1	MM3 30-50 10 ⁴ 1	43	0
39	4	0	0	0	1	1	1	1	MM4 0-15 10 ³ 1	44	0
50	7	1	1	1	1	1	1	1	MM4 15-30 10 ⁴ 1	47	0
39	4	0	0	0	1	1	1	1	MM4 1 30-50 10 ⁴ 1	49	0
51	4	0	0	1	1	1	0	1	MM4 2 30-50 10 ³ 1	50	0
52	6	1	1	0	1	1	1	1	MM4 2 30-50 10 ³ 2	51	0
25	5	0	1	0	1	1	1	1	MM1 1mm 0-15 10 ³ 1	1.5	1
7	6	0	1	1	1	1	1	1	MM1 15-30 10 ³ 2	1.5	14
26	6	1	1	1	1	1	1	0	MM1 15-30 10 ³ 3	1.5	15
4	5	0	1	1	1	1	1	1	MM1 15-30 10 ³ 4	1.5	16
27	4	1	1	1	0	0	1	0	MM1 15-30 10 ⁴ 1	1.5	17
28	3	0	0	0	1	0	1	1	MM1 30-50 10 ³ 1	1.5	21
29	3	0	0	0	0	1	1	1	MM1 30-50 10 ³ 2	1.5	22



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICA

1.5	27	MM2 0-15 10 ⁴ 1	1	1	1	1	0	0	0	4	30
1.5	28	MM2 1 15-30 10 ³ 1	0	1	1	1	0	1	0	4	31
1.5	31	MM2 1 15-30 10 ³ 4	1	1	1	1	0	1	0	5	32
1.5	32	MM2 1 15-30 10 ⁴ 1	0	1	1	1	0	0	0	3	33
1.5	33	MM2 1 15-30 10 ⁴ 2	0	1	1	1	0	0	0	3	33
1.5	34	MM2 1 15-30 10 ⁴ 3	1	1	1	1	1	0	0	5	34
1.5	36	MM2 2 15-30 10 ³ 1	1	1	1	1	1	1	1	7	35
1.5	41	MM3 0-15 10 ³ 4	0	1	1	0	1	0	0	3	36
1.5	43	MM3 15-30 10 ³ 1	0	1	1	1	0	0	0	3	18
1.5	44	MM3 15-30 10 ⁴ 1	0	1	1	0	1	1	0	4	37
1.5	46	MM3 30-50 10 ³ 2	1	1	1	1	1	0	1	6	38
1.5	49	MM4 0-15 10 ⁴ 1	1	1	1	1	0	0	0	4	39
1.5	51	MM4 15-30 10 ³ 2	0	1	1	1	1	0	0	4	40
1.5	52	MM4 15-30 10 ⁴ 1	0	1	1	1	0	0	0	3	23
1.5	53	MM4 1 30-50 10 ³ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	41
1.5	58	MM4 2 30-50 10 ⁴ 1	0	1	1	1	0	0	0	3	23
3	1	MM1 1mm 0-15 10 ³ 1	1	1	0	1	1	1	1	6	1
3	2	MM1 1mm 0-15 10 ³ 2	0	1	0	0	1	1	0	3	2
3	5	MM1 1mm 0-15 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	1	0	4	5
3	9	MM1 1mm 0-15 10 ⁴ 5	0	1	1	1	0	0	0	3	6
3	10	MM1 0-15 10 ³ 1	0	1	1	1	1	1	0	5	4
3	16	MM1 15-30 10 ⁴ 1	0	1	1	0	1	1	0	4	3
3	21	MM1 30-50 10 ⁴ 1	1	1	1	1	1	1	0	6	7
3	20	MM1 30-50 10 ³ 1	1	1	0	1	1	1	0	5	8
3	31	MM2 15-30 10 ⁴ 3	0	1	1	0	1	1	0	4	9
3	23	MM2 0-15 10 ³ 2	0	1	0	0	1	1	0	3	10
3	24	MM2 0-15 10 ⁴ 1	1	1	1	1	1	1	0	6	11
3	25	MM2 15-30 10 ³ 1	1	1	0	0	1	1	0	4	12
3	26	MM2 15-30 10 ³ 2	0	1	1	1	1	1	0	5	13
3	30	MM2 15-30 10 ⁴ 2	0	1	0	1	1	1	0	4	14
3	36	MM3 15-30 10 ³ 1	0	1	1	1	1	0	0	4	15
3	37	MM3 15-30 10 ⁴ 1	0	1	1	1	1	1	0	5	16
3	38	MM3 15-30 10 ⁴ 2	0	1	0	1	0	1	0	3	17
3	39	MM3 30-50 10 ³ 1	0	1	1	1	0	0	0	3	18
3	41	MM3 30-50 10 ⁴ 1	1	1	1	1	0	1	1	6	19
3	42	MM4 0-15 10 ³ 1	1	1	1	1	0	1	0	5	20
3	47	MM4 15-30 10 ⁴ 1	0	1	1	1	0	1	0	4	21

3	45	MM4 15-30 10 ³ 2	1	1	1	0	1	1	0	5	22
3	48	MM4 1 30-50 10 ³ 1	0	1	1	1	0	0	0	3	23
3	51	MM4 2 30-50 10 ⁴ 2	1	1	1	1	1	1	0	6	24

II-B. Tabla de perfiles de resistencia de Manglar Lagunitas.

NaCl (Criterio de aislamiento)	Identificacion	Nomenclatura	Ampicilina	Kanamicina	Cloranfenicol	Cefotaxima	Ciprofloxacina	Vancomicina	Tetraciclina	Resistencias	Cluster
0	1	ML2 30-50 10 ⁴ 1	1	1	0	1	1	1	0	5	1
0	7	ML4 15-30 10 ³ 1	0	1	1	1	1	0	1	5	2
0	8	ML4 30-50 10 ³ 1	0	1	1	1	1	0	0	4	3
0	9	ML4 30-50 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	4
0	61	ML3 0-15 10 ³ 2	0	1	1	1	1	1	1	6	5
0	65	ML3 0-15 10 ⁴ 2	0	0	1	1	1	1	0	4	7
1.5	1	ML4 30-50 10 ³ 1	0	1	1	1	1	0	0	4	3
1.5	2	ML4 30-50 10 ³ 2	0	1	0	0	1	0	1	3	16
1.5	59	ML1 0-15 10 ³ 1	0	1	0	0	1	1	0	3	8
1.5	63	ML2 0-15 10 ³ 1	1	1	1	1	0	1	1	6	9
1.5	65	ML2 0-15 10 ³ 2B	0	1	1	0	0	1	0	3	10
1.5	69	ML3 0-15 10 ³ 1	0	0	1	1	1	1	0	4	7
1.5	70	ML3 0-15 10 ³ 2	0	1	1	0	1	1	0	4	11
1.5	71	ML3 0-15 10 ³ 3	0	0	0	1	0	1	1	3	12
1.5	73	ML3 0-15 10 ⁴ 1	0	1	1	1	1	1	1	6	5
1.5	74	ML3 0-15 10 ⁴ 2	0	0	1	0	1	1	0	3	6
1.5	76	ML3 0-15 10 ⁴ 4	0	1	1	1	0	0	0	3	13
1.5	102	ML4 0-15 10 ³ 1	0	0	1	1	1	0	0	3	14
1.5	103	ML4 0-15 10 ³ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	4
1.5	105	ML4 0-15 10 ⁴ 1	1	0	1	1	1	1	0	5	15
3	1	ML1 15-30 10 ³ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	17
3	3	ML2 15-30 10 ³ 1	0	1	1	1	1	0	1	5	18
3	7	ML2 15-30 10 ⁴ 1	1	1	0	0	0	0	1	3	19
3	8	ML3 15-30 10 ³ 1	1	0	0	1	1	0	0	3	20
3	14	ML3 30-50 10 ³ 2	0	1	1	1	1	0	0	4	21

3	16	ML4 0-15 10 ⁴ 1	1	1	1	0	0	1	0	4	22
3	18	ML4 30-50 10 ³ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	4
3	52	ML1 0-15 10 ³ 1	1	1	0	1	0	1	0	4	23
3	53	ML1 0-15 10 ³ 2	0	1	1	1	0	1	0	4	24
3	54	ML1 0-15 10 ⁴ 1	0	1	1	0	0	1	0	3	25
3	55	ML1 0-15 10 ⁴ 2	0	1	1	0	1	1	0	4	26
3	56	ML2 0-15 10 ³ 1	1	1	1	1	1	1	0	6	27
3	57	ML2 0-15 10 ³ 2	0	1	1	1	0	1	1	5	28
3	58	ML2 0-15 10 ⁴ 1	0	1	1	1	0	1	0	4	29
3	65	ML3 0-15 10 ⁴ 2	1	1	1	1	0	1	0	5	30
3	66	ML3 0-15 10 ⁴ 3	1	1	1	1	0	1	0	5	30
3	67	ML3 0-15 10 ⁴ 4	0	1	1	1	0	1	0	4	31
3	63	ML3 0-15 10 ³ 4	1	1	1	1	1	1	0	6	32

II-C. Tabla de perfiles de resistencia de Manglar San Carlos Perturbado (CFE).

NaCl (Criterio de aislamiento)	Identificación	Nomenclatura	Ampicilina	Kanamicina	Clorantfenicol	Cetotaxima	Ciprofloxacina	Vancomicina	Tetraciclina	Resistencias	Cluster
0	17	CFE1 15-30 10 ⁴ 1	1	1	1	1	1	0	0	5	1
0	21	CFE1 30-50 10 ⁴ 1	1	1	1	0	0	0	1	4	2
0	26	CFE2 15-30 10 ³ 1	1	0	1	1	1	0	0	4	3
0	28	CFE2 30-50 10 ³ 1	0	0	1	1	1	0	0	3	4
0	29	CFE2 30-50 10 ³ 2	0	0	1	1	1	0	0	3	4
0	30	CFE2 30-50 10 ³ 3	0	1	1	1	1	0	0	4	5
0	32	CFE3 0-15 10 ⁴ 1	0	0	1	1	1	1	1	5	7
0	37	CFE3 15-30 10 ³ 1	0	1	0	1	1	1	0	4	8
0	38	CFE3 15-30 10 ³ 2	0	0	0	1	1	1	0	3	9
0	42	CFE3 15-30 10 ³ 6	0	0	1	1	1	1	0	4	10
0	44	CFE3 15-30 10 ³ 8	0	0	1	1	1	0	0	3	11
0	47	CFE3 15-30 10 ⁴ 3	1	0	0	1	1	1	0	4	12
0	52	CFE3 30-50 10 ³ 1	0	1	1	1	1	0	0	4	6
0	57	CFE4 0-15 10 ³ 3	1	1	1	1	1	0	0	5	14
0	59	CFE4 0-15 10 ³ 5	1	0	1	1	1	0	0	4	15
0	65	CFE4 15-30 10 ³ 1	1	0	1	1	1	1	0	5	16



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICA

0	75	CFE4 15-30 10 ⁴ 5	1	0	0	1	1	1	0	4	13
0	82	CFE4 30-50 10 ⁴ 3	0	0	0	1	1	1	0	3	18
0	89	CFE5 0-15 10 ³ 4B	1	0	0	1	0	1	0	3	19
0	97	CFE5 0-15 10 ⁴ 4	0	0	0	1	1	1	1	4	21
0	98	CFE5 0-15 10 ⁴ 5	1	1	1	1	1	0	0	5	20
0	101	CFE5 15-30 10 ³ 1	1	0	0	1	1	1	0	4	22
0	105	CFE5 15-30 10 ³ 5	0	0	0	1	1	1	0	3	23
0	116	CFE5 15-30 10 ⁴ 8B	0	1	1	0	0	0	1	3	24
0	119	CFE5 30-50 10 ³ 2	1	0	1	1	1	1	0	5	25
0	124	CFE5 30-50 10 ³ 7	0	0	0	1	1	1	0	3	23
1.5	3	CFE1 0-15 10 ³ 1	0	0	1	1	1	1	0	4	26
1.5	5	CFE1 0-15 10 ⁴ 1	0	0	1	1	1	0	0	3	27
1.5	8	CFE1 15-30 10 ³ 2	1	0	0	1	1	0	0	3	28
1.5	10	CFE1 15-30 10 ³ 3B	1	0	1	1	1	1	1	6	29
1.5	15	CFE2 0-15 10 ³ 1	1	1	0	1	1	1	0	5	30
1.5	16	CFE2 0-15 10 ³ 2	1	1	0	1	1	0	0	4	31
1.5	20	CFE2 15-30 10 ⁴ 3	1	1	0	0	0	1	1	4	32
1.5	21	CFE2 30-50 10 ³ 1	0	0	0	1	1	1	0	3	33
1.5	24	CFE2 30-50 10 ⁴ 1	1	0	0	1	1	0	0	3	34
1.5	28	CFE3 0-15 10 ³ 2	1	1	0	0	1	1	0	4	35
1.5	29	CFE3 0-15 10 ³ 3	1	1	0	1	1	1	1	6	36
1.5	33	CFE3 0-15 10 ⁴ 2	1	1	0	1	1	0	0	4	37
1.5	36	CFE3 15-30 10 ³ 2	1	1	1	1	1	1	0	6	38
1.5	41	CFE3 15-30 10 ⁴ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	39
1.5	43	CFE3 15-30 10 ⁴ 4	0	1	1	1	1	0	0	4	6
1.5	46	CFE3 30-50 10 ³ 1	1	1	1	1	1	0	0	5	40
1.5	48	CFE4 0-15 10 ³ 1	1	1	1	1	1	0	0	5	14
1.5	49	CFE4 0-15 10 ³ 2	0	1	1	1	1	0	0	4	41
1.5	59	CFE4 15-30 10 ⁴ 3	1	0	0	1	1	0	0	3	17
1.5	62	CFE4 30-50 10 ³ 3	0	1	1	1	1	0	0	4	41
1.5	69	CFE5 0-15 10 ³ 3	1	1	1	1	1	0	0	5	20
1.5	85	CFE5 15-30 10 ⁴ 4A	0	1	0	1	1	0	0	3	42
1.5	92	CFE5 30-50 10 ³ 3A	0	1	1	1	1	0	0	4	43
3	22	CFE1 0-15 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	44
3	26	CFE1 15-30 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	44
3	32	CFE2 0-15 10 ³ 3	1	1	0	1	1	0	1	5	45
3	41	CFE2 30-50 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	46

3	43	CFE2 30-50 10 ³ 2A	0	1	1	1	1	0	0	4	5
3	51	CFE3 0-15 10 ³ 6	1	1	0	0	0	1	1	4	47
3	57	CFE3 30-50 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	39
3	60	CFE4 15-30 10 ³ 1	0	1	1	1	1	0	0	4	41
3	63	CFE5 0-15 10 ³ 2	0	1	1	1	1	0	0	4	43
3	66	CFE5 15-30 10 ⁴ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	42

II-D. Tabla de perfiles de resistencia de Manglar San Carlos Conservado (SCC).

Cluster	Resistencias	Tetraciclina	Vancomicina	Ciprofloxacina	Cefotaxima	Cloranfenicol	Kanamicina	Ampicilina	Nomenclatura	Identificación	NaCl (Criterio de aislamiento)
1	5	0	1	1	1	1	0	1	SCC1 0-15 10 ³ 5	5	0
2	3	0	0	1	0	0	1	1	SCC2 0-15 10 ³ 4	16	0
3	3	0	1	0	0	1	1	0	SCC2 15-30 10 ³ 4	27	0
4	4	1	1	0	1	0	0	1	SCC2 30-50 10 ³ 7	42	0
5	3	1	1	0	0	0	0	1	SCC2 30-50 10 ⁴ 1	43	0
6	4	0	1	1	0	0	1	1	SCC3 30-50 10 ⁴ 1	52	0
7	3	1	1	0	0	0	0	1	SCC4 0-15 10 ³ 2	54	0
8	3	0	0	1	1	1	0	0	SCC4 0-15 10 ⁴ 1	56	0
9	3	0	0	1	1	0	0	1	SCC4 30-50 10 ³ 1	57	0
10	4	0	0	1	1	1	0	1	SCC5 15-30 10 ⁴ 1	69	0
11	4	0	0	1	1	1	1	0	SCC1 15-30 10 ³ 5	12	1.5
15	6	1	0	1	1	1	1	1	SCC2 30-50 10 ⁴ 2	49	1.5
21	5	0	0	1	1	1	1	1	SCC3 0-15 10 ⁴ 1	59	1.5
28	3	0	0	1	1	0	1	0	SCC1 0-15 10 ³ 6	6	1.5
28	3	0	0	1	1	0	1	0	SCC1 0-15 10 ³ 7	7	1.5
28	3	0	0	1	1	0	1	0	SCC1 30-50 10 ³ 3	17	1.5
29	3	0	0	1	0	1	1	0	SCC1 15-30 10 ³ 3	10	1.5
30	3	0	1	0	0	0	1	1	SCC2 0-15 10 ³ 2	23	1.5
31	3	0	1	0	0	1	0	1	SCC2 0-15 10 ⁴ 2	27	1.5
32	6	1	1	1	1	0	1	1	SCC2 0-15 10 ⁴ 3	28	1.5
33	4	0	1	1	1	0	1	1	SCC2 15-30 10 ³ 3	34	1.5
34	3	0	1	0	1	0	1	0	SCC2 15-30 10 ³ 5	36	1.5



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICA

1.5	42	SCC2 30-50 10 ³ 1	1	1	0	1	1	0	0	4	35
1.5	44	SCC2 30-50 10 ³ 3	1	0	1	1	1	0	0	4	36
1.5	47	SCC2 30-50 10 ³ 6	1	0	0	1	1	0	0	3	37
1.5	48	SCC2 30-50 10 ⁴ 1	0	0	0	1	1	1	0	3	38
1.5	51	SCC2 30-50 10 ⁴ 4	1	1	0	1	1	0	1	5	39
1.5	66	SCC3 30-50 10 ³ 3	0	1	0	1	1	0	0	3	40
1.5	63	SCC3 15-30 10 ⁴ 1	1	1	0	1	1	1	0	5	41
1.5	65	SCC3 30-50 10 ³ 2	1	1	0	1	0	1	1	5	42
1.5	68	SCC3 30-50 10 ⁴ 2	0	1	0	1	0	1	0	3	43
1.5	73	SCC4 0-15 10 ⁴ 1	1	1	1	1	1	0	0	5	44
1.5	75	SCC4 15-30 10 ⁴ 1	0	1	1	1	1	0	0	4	45
1.5	80	SCC4 30-50 10 ⁴ 1	1	1	1	1	1	1	1	7	46
1.5	81	SCC4 30-50 10 ⁴ 2	1	1	1	1	1	0	1	6	47
1.5	82	SCC5 0-15 10 ³ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	48
1.5	93	SCC5 15-30 10 ³ 6	1	0	0	1	1	0	0	3	49
1.5	94	SCC5 30-50 10 ³ 1	1	1	0	1	1	0	0	4	50
3	13	SCC1 15-30 10 ⁴ 3	0	1	1	1	1	0	0	4	11
3	10	SCC1 15-30 10 ³ 3	1	1	1	1	1	0	0	5	12
3	12	SCC1 15-30 10 ⁴ 2	0	1	1	1	0	0	0	3	13
3	24	SCC2 0-15 10 ⁴ 2	1	1	1	0	1	1	1	6	14
3	25	SCC2 0-15 10 ⁴ 3	1	1	1	1	1	0	1	6	15
3	26	SCC2 0-15 10 ⁴ 4	0	1	1	1	1	0	1	5	16
3	36	SCC2 30-50 10 ³ 2	0	1	1	0	1	1	1	5	17
3	38	SCC2 30-50 10 ³ 4	0	1	1	0	0	0	1	3	18
3	41	SCC2 30-50 10 ⁴ 1	0	1	1	1	0	0	0	3	19
3	44	SCC2 30-50 10 ⁴ 4	1	1	1	1	1	1	0	6	20
3	59	SCC3 30-50 10 ³ 4	1	1	0	1	1	0	0	4	22
3	61	SCC4 0-15 10 ³ 2	1	1	1	0	1	1	0	5	23
3	65	SCC4 30-50 10 ³ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	24
3	67	SCC5 0-15 10 ³ 2	0	1	0	0	1	1	0	3	25
3	68	SCC5 0-15 10 ³ 3	1	0	0	1	1	0	1	4	26
3	77	SCC5 15-30 10 ⁴ 3	0	1	0	0	1	1	1	4	27

II-E. Tabla de perfiles de resistencia de Manglar Carretera Aeropuerto – La Paz (CDB).

NaCl (Criterio de aislamiento)	Identificacion	Nomenclatura	Ampicilina	Kanamicina	Cloranfenicol	Cefotaxima	Ciprofloxacina	Vancomicina	Tetraciclina	Resistencias	Cluster
0	2	CdB1 1 0-15 10 ³ 2	0	0	0	1	1	1	1	4	1
0	16	CdB1 1 0-15 10 ³ 4B	1	0	0	1	1	1	0	4	3
0	17	CdB1 1 0-15 10 ⁴ 1	0	0	0	1	1	1	0	3	2
0	19	CdB1 1 0-15 10 ⁴ 3	0	0	1	1	1	0	0	3	4
0	32	CdB1 15-30 10 ⁴ 3	0	0	1	1	1	0	0	3	4
0	36	CdB1 30-50 10 ³ 2	0	0	1	1	1	1	1	5	5
0	37	CdB1 30-50 10 ³ 3A	0	0	1	1	1	1	1	5	5
0	38	CdB1 30-50 10 ³ 3B	0	0	1	1	1	1	1	5	5
0	40	CdB1 30-50 10 ⁴ 1	0	0	0	1	1	1	0	3	2
0	41	CdB1 30-50 10 ⁴ 2	0	0	0	1	1	1	0	3	2
0	43	CdB1 30-50 10 ⁴ 4	0	0	0	1	1	1	1	4	1
0	55	CdB2 15-30 10 ³ 1	1	0	1	1	1	0	1	5	6
0	58	CdB2 15-30 10 ³ 4	1	1	1	1	1	0	1	6	7
0	59	CdB2 15-30 10 ³ 5	0	0	1	1	1	0	1	4	8
0	60	CdB2 15-30 10 ³ 6	1	1	1	1	1	0	1	6	7
0	63	CdB2 15-30 10 ⁴ 2	1	1	0	1	1	0	1	5	9
0	66	CdB2 15-30 10 ⁴ 5	1	1	0	1	1	0	0	4	10
0	69	CdB2 30-50 10 ³ 1	0	0	0	1	1	0	1	3	11
0	76	CdB2 30-50 10 ⁴ 3	1	0	1	1	1	0	0	4	12
0	77	CdB2 30-50 10 ⁴ 4	0	1	0	1	1	0	0	3	13
0	83	CdB3 0-15 10 ³ 3	0	0	1	1	1	1	1	5	14
0	84	CdB3 0-15 10 ³ 4	0	0	1	1	1	0	1	4	15
0	85	CdB3 0-15 10 ³ 5	0	0	0	1	1	1	0	3	16
0	88	CdB3 0-15 10 ⁴ 2	0	1	1	1	1	1	1	6	17
0	95	CdB3 1 15-30 10 ³ 3	1	0	0	1	1	1	0	4	19
0	96	CdB3 1 15-30 10 ³ 4	0	1	1	1	1	0	0	4	20
0	97	CdB3 1 15-30 10 ⁴ 1	0	0	1	1	1	0	0	3	21

0	104	CdB3 2 15-30 10 ³ 3	0	0	1	1	1	0	0	3	21
0	105	CdB3 2 15-30 10 ⁴ 1	0	0	0	1	1	1	0	3	16
0	111	CdB3 30-50 10 ³ 4	1	0	0	1	1	0	1	4	23
0	112	CdB3 30-50 10 ³ 5	1	0	0	1	1	0	0	3	24
0	113	CdB3 30-50 10 ³ 6	1	0	0	1	1	1	1	5	25
0	115	CdB4 0-15 10 ³ 1	0	0	1	1	1	0	0	3	26
0	116	CdB4 0-15 10 ³ 2	0	1	1	1	1	0	1	5	27
0	121	CdB4 0-15 10 ³ 7	0	1	1	1	1	0	1	5	27
0	124	CdB4 15-30 10 ³ 1	0	1	0	0	1	1	0	3	28
0	125	CdB4 15-30 10 ³ 2	0	1	1	1	1	0	0	4	29
0	127	CdB4 15-30 10 ³ 4	0	0	1	1	1	0	0	3	26
0	137	CdB4 15-30 10 ⁴ 6	1	0	1	1	1	0	0	4	30
0	138	CdB4 30-50 10 ³ 1	1	1	1	1	1	0	0	5	31
0	150	CdB5 0-30 10 ³ 3	0	1	1	1	0	0	1	4	32
0	151	CdB5 0-30 10 ³ 4	1	0	0	1	1	1	0	4	33
0	153	CdB5 0-30 10 ³ 6	0	0	0	1	0	1	1	3	34
0	154	CdB5 0-30 10 ⁴ 1	0	1	1	1	0	1	0	4	35
0	163	CdB5 30-50 10 ³ 6	1	0	0	1	1	0	0	3	36
0	166	CdB5 30-50 10 ⁴ 3	0	1	1	1	1	1	0	5	37
0	176	CdB6 0-15 10 ⁴ 2	0	1	1	1	1	1	0	5	38
0	177	CdB6 0-15 10 ⁴ 3	0	0	1	0	1	1	1	4	39
0	180	CdB6 0-15 10 ⁴ 6	0	0	1	1	1	1	0	4	40
0	181	CdB6 0-15 10 ⁴ 7	1	1	1	1	0	1	1	6	41
0	182	CdB6 15-30 10 ³ 1	0	0	0	1	1	1	0	3	42
0	185	CdB6 15-30 10 ³ 4	0	0	1	0	1	1	1	4	39
0	187	CdB6 15-30 10 ³ 6	1	0	1	1	1	1	0	5	43
0	188	CdB6 15-30 10 ⁴ 1	0	0	1	0	1	1	1	4	39
0	193	CdB6 15-30 10 ⁴ 6	1	0	1	1	1	0	0	4	44
0	198	CdB6 30-50 10 ³ 4A	0	0	1	0	1	1	0	3	45
0	199	CdB6 30-50 10 ³ 4B	1	1	1	1	1	0	0	5	46
0	201	CdB6 30-50 10 ³ 6	0	0	0	1	1	1	0	3	42
0	210	CdB6 30-50 10 ⁴ 8	0	0	0	1	1	0	1	3	47
0	212	CdB7 0-15 10 ³ 2	0	1	1	1	1	1	1	6	48

0	217	CdB7 0-15 10 ³ 7	0	0	0	1	1	0	1	3	49
0	220	CdB7 0-15 10 ⁴ 3	0	0	1	1	1	0	0	3	50
0	224	CdB7 15-30 10 ³ 4	1	0	1	1	1	0	0	4	51
0	226	CdB7 15-30 10 ⁴ 1	1	0	1	1	1	0	0	4	51
0	231	CdB7 30-50 10 ³ 1	0	0	1	1	1	0	0	3	50
0	234	CdB7 30-50 10 ³ 4	1	0	1	1	1	0	1	5	53
0	236	CdB7 30-50 10 ⁴ 1	0	0	0	1	1	1	0	3	54
0	239	CdB8 0-30 10 ³ 2	0	1	1	1	0	1	0	4	55
0	240	CdB8 0-30 10 ³ 3	0	0	1	1	1	0	0	3	56
0	242	CdB8 0-30 10 ³ 5	1	1	0	0	1	0	0	3	57
0	243	CdB8 0-30 10 ³ 6	1	0	0	1	1	0	1	4	58
0	244	CdB8 0-30 10 ³ 7	0	1	1	0	1	0	0	3	59
0	248	CdB8 0-30 10 ⁴ 4	0	0	1	0	1	0	1	3	60
0	251	CdB8 30-50 10 ³ 1	0	0	1	1	1	0	0	3	56
1.5	1	CdB1 1 0-15 10 ³ 1	0	1	1	1	1	1	0	5	61
1.5	3	CdB1 1 0-15 10 ³ 3	0	1	1	0	1	0	0	3	62
1.5	7	CdB1 1 0-15 10 ⁴ 3A	0	0	0	1	1	1	0	3	2
1.5	8	CdB1 1 0-15 10 ⁴ 3B	1	1	1	1	1	0	0	5	63
1.5	11	CdB1 1 0-15 10 ³ 2B	1	0	1	1	1	1	0	5	64
1.5	12	CdB1 1 0-15 10 ³ 3A	1	0	1	1	1	1	0	5	64
1.5	14	CdB1 1 0-15 10 ³ 4B	1	0	1	1	1	1	0	5	64
1.5	17	CdB1 1 0-15 10 ⁴ 2B	1	1	0	0	1	1	0	4	66
1.5	18	CdB1 1 0-15 10 ⁴ 3	1	1	1	1	1	1	0	6	65
1.5	21	CdB1 15-30 10 ⁴ 1	0	0	0	1	1	1	0	3	2
1.5	22	CdB1 15-30 10 ⁴ 2	0	1	1	1	1	0	0	4	67
1.5	25	CdB1 30-50 10 ³ 1	1	0	1	1	0	0	0	3	68
1.5	28	CdB1 30-50 10 ⁴ 1	0	0	1	1	1	0	0	3	4
1.5	30	CdB1 30-50 10 ⁴ 2B	1	1	1	1	1	1	0	6	65
1.5	36	CdB2 0-15 10 ⁴ 1	0	0	0	1	1	1	0	3	69
1.5	37	CdB2 0-15 10 ⁴ 2	1	0	0	1	1	1	0	4	70
1.5	40	CdB2 15-30 10 ³ 1	0	0	0	1	1	1	0	3	69
1.5	48	CdB2 30-50 10 ³ 1	1	1	0	1	1	1	0	5	71
1.5	49	CdB2 30-50 10 ³ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	13

1.5	51	CdB2 30-50 10 ⁴ 2	1	1	0	1	1	0	0	4	10
1.5	52	CdB2 30-50 10 ⁴ 3	1	1	0	1	1	0	0	4	10
1.5	55	CdB3 0-15 10 ³ 2	0	1	1	0	0	1	0	3	72
1.5	56	CdB3 0-15 10 ³ 3	1	1	0	1	1	1	0	5	73
1.5	57	CdB3 0-15 10 ³ 4	1	1	0	1	1	1	0	5	73
1.5	67	CdB3 1 15-30 10 ³ 4	0	1	0	1	1	0	1	4	74
1.5	68	CdB3 1 15-30 10 ⁴ 1	1	0	0	1	1	1	0	4	19
1.5	70	CdB3 1 15-30 10 ⁴ 3	0	0	1	1	1	1	0	4	22
1.5	71	CdB3 1 15-30 10 ⁴ 4A	0	1	1	1	1	1	0	5	75
1.5	72	CdB3 1 15-30 10 ⁴ 4B	0	0	0	1	1	1	0	3	16
1.5	73	CdB3 2 15-30 10 ³ 1	0	1	1	1	1	1	0	5	75
1.5	74	CdB3 2 15-30 10 ³ 2	1	1	1	1	1	0	0	5	76
1.5	77	CdB3 2 15-30 10 ⁴ 3	1	1	1	1	1	1	1	7	77
1.5	79	CdB3 30-50 10 ³ 1	0	1	1	1	1	0	0	4	20
1.5	80	CdB3 30-50 10 ⁴ 1	1	1	0	1	1	0	0	4	78
1.5	82	CdB3 30-50 10 ⁴ 3	1	1	1	1	1	1	1	7	77
1.5	85	CdB4 0-15 10 ³ 3	0	1	1	1	1	0	1	5	27
1.5	88	CdB4 15-30 10 ³ 1	0	1	1	1	1	0	0	4	29
1.5	89	CdB4 15-30 10 ³ 2	1	0	0	1	1	0	0	3	79
1.5	97	CdB4 30-50 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	1	0	4	81
1.5	98	CdB5 0-30 10 ³ 1	0	1	1	1	1	0	0	4	82
1.5	99	CdB5 0-30 10 ³ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	83
1.5	109	CdB6 0-15 10 ⁴ 1	0	1	1	1	1	0	0	4	85
1.5	110	CdB6 0-15 10 ⁴ 2	1	1	1	1	1	0	0	5	46
1.5	112	CdB6 15-30 10 ³ 3	0	1	0	1	1	0	0	3	86
1.5	116	CdB6 30-50 10 ⁴ 1	1	0	1	1	0	1	1	5	87
1.5	117	CdB6 30-50 10 ⁴ 3	1	1	0	0	0	1	0	3	88
1.5	119	CdB7 0-15 10 ³ 2	0	1	1	1	1	0	0	4	52
1.5	125	CdB7 30-50 10 ³ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	89
1.5	133	CdB8 0-15 10 ⁴ 4	1	0	1	1	1	0	0	4	90
3	2	CdB1 1 0-15 10 ³ 2	0	1	0	1	1	1	1	5	91
3	3	CdB1 1 0-15 10 ³ 3	0	1	0	1	1	0	0	3	92
3	8	CdB1 1 0-15 10 ⁴ 2B	0	0	0	1	1	1	0	3	2



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICA

3	10	CdB1 15-30 10 ³ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	92
3	11	CdB1 15-30 10 ³ 2	1	1	0	1	1	1	1	6	93
3	13	CdB1 15-30 10 ⁴ 1B	0	1	0	0	1	0	1	3	94
3	15	CdB1 15-30 10 ⁴ 3	0	1	0	1	1	1	0	4	95
3	26	CdB2 0-15 10 ⁴ 2	0	0	0	1	1	1	0	3	69
3	28	CdB2 15-30 10 ³ 1	0	1	0	1	1	1	1	5	96
3	31	CdB2 15-30 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	1	1	5	96
3	33	CdB2 15-30 10 ⁴ 3	0	1	0	1	1	1	0	4	97
3	35	CdB2 30-50 10 ³ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	13
3	39	CdB3 0-15 10 ³ 3	0	1	0	1	1	0	0	3	98
3	40	CdB3 0-15 10 ³ 4	1	1	0	1	1	1	1	6	99
3	41	CdB3 0-15 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	1	1	5	100
3	43	CdB3 0-15 10 ⁴ 3	0	1	0	1	1	1	1	5	100
3	44	CdB3 0-15 10 ⁴ 4	0	1	0	1	1	1	0	4	18
3	46	CdB3 1 15-30 10 ³ 1B	0	0	0	1	1	1	0	3	16
3	47	CdB3 1 15-30 10 ³ 2	0	1	0	1	1	1	0	4	18
3	48	CdB3 1 15-30 10 ³ 3A	0	1	0	1	1	0	1	4	74
3	51	CdB3 1 15-30 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	98
3	54	CdB3 1 15-30 10 ⁴ 4	1	0	0	1	1	1	0	4	19
3	57	CdB3 2 15-30 10 ⁴ 1	0	1	0	0	0	1	1	3	101
3	59	CdB3 2 15-30 10 ⁴ 3	0	1	0	1	1	0	0	3	98
3	61	CdB3 30-50 10 ³ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	98
3	63	CdB3 30-50 10 ⁴ 1	1	1	1	1	1	1	0	6	102
3	64	CdB4 0-15 10 ³ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	80
3	68	CdB4 15-30 10 ³ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	80
3	69	CdB4 15-30 10 ³ 3	0	1	0	1	1	1	1	5	103
3	70	CdB4 15-30 10 ³ 4	1	1	0	1	1	1	0	5	104
3	71	CdB4 15-30 10 ⁴ 1	0	1	1	1	1	1	1	6	105
3	74	CdB4 15-30 10 ⁴ 4	0	1	1	0	1	0	0	3	106
3	75	CdB4 30-50 10 ³ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	80
3	78	CdB5 0-30 10 ³ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	83
3	79	CdB5 0-30 10 ³ 3	1	1	0	1	1	0	0	4	107
3	80	CdB5 0-30 10 ³ 4	0	1	0	1	1	0	0	3	83

3	81	CdB5 0-30 10 ³ 5	0	0	1	1	1	0	0	3	84
3	83	CdB5 30-50 10 ³ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	83
3	86	CdB5 30-50 10 ³ 4	0	1	1	0	0	0	1	3	108
3	88	CdB5 30-50 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	0	1	4	109
3	90	CdB5 30-50 10 ⁴ 3	1	0	0	1	1	0	0	3	36
3	92	CdB6 0-15 10 ³ 1	0	1	1	1	1	0	0	4	85
3	93	CdB6 0-15 10 ³ 2	0	1	1	1	1	0	0	4	85
3	97	CdB6 0-15 10 ⁴ 3	0	1	0	1	1	1	1	5	110
3	99	CdB6 15-30 10 ³ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	86
3	102	CdB6 15-30 10 ³ 4	0	0	0	1	1	1	0	3	42
3	103	CdB6 15-30 10 ³ 5	0	1	0	1	1	0	0	3	86
3	104	CdB6 15-30 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	1	0	4	111
3	106	CdB6 15-30 10 ⁴ 3	1	1	0	1	1	0	0	4	112
3	110	CdB6 30-50 10 ³ 2	0	1	0	1	1	1	1	5	110
3	111	CdB6 30-50 10 ³ 3	1	1	0	1	1	1	0	5	113
3	115	CdB6 30-50 10 ⁴ 1	0	1	0	1	1	1	0	4	111
3	116	CdB6 30-50 10 ⁴ 2	1	1	0	1	1	0	0	4	112
3	117	CdB6 30-50 10 ⁴ 3	0	1	0	1	1	0	1	4	114
3	118	CdB6 30-50 10 ⁴ 4	0	0	0	1	1	0	1	3	47
3	120	CdB7 0-15 10 ³ 1	0	1	0	1	1	0	0	3	89
3	122	CdB7 0-15 10 ³ 3	1	1	0	1	1	0	0	4	115
3	123	CdB7 0-15 10 ³ 4	0	1	0	1	1	0	0	3	89
3	126	CdB7 0-15 10 ⁴ 2	0	0	0	1	1	1	0	3	54
3	129	CdB7 15-30 10 ³ 1	0	1	0	1	1	1	0	4	116
3	130	CdB7 15-30 10 ³ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	89
3	131	CdB7 15-30 10 ³ 3	1	1	0	1	0	1	0	4	117
3	132	CdB7 15-30 10 ³ 4	1	0	0	1	1	1	1	5	118
3	136	CdB7 15-30 10 ⁴ 4	0	1	1	1	1	1	1	6	48
3	138	CdB7 30-50 10 ³ 2	0	1	0	1	1	1	0	4	116
3	142	CdB8 0-15 10 ⁴ 2	1	0	1	1	1	0	0	4	90
3	146	CdB8 30-50 10 ³ 2	0	1	0	1	1	0	0	3	119
3	149	CdB8 30-50 10 ³ 5	0	1	0	1	1	0	0	3	119